

**ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Fulya Eylem YEDİAY

**EKMEKLİK VE MAKARNALIK BUĞDAY ÇEŞİTLERİNDE 1AL.1RS VE
1BL.1RS ÇAVDAR TRANSLOKASYONLARI İLE CÜCELİK GENLERİNİN
ARAŞTIRILMASI**

BİYOTEKNOLOJİ ANABİLİM DALI

ADANA, 2009

**ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**EKMEKLİK VE MAKARNALIK BUĞDAY ÇEŞİTLERİNDE 1AL.1RS VE
1BL.1RS ÇAVDAR TRANSLOKASYONLARI İLE CÜCELİK GENLERİNİN
ARAŞTIRILMASI**

Fulya Eylem YEDİAY

YÜKSEK LİSANS TEZİ

BİYOTEKNOLOJİ ANABİLİM DALI

**Bu Tez 12/02/2009 Tarihinde Aşağıdaki Jüri Üyeleri Tarafından Oybirliğiyle
Kabul Edilmiştir.**

İmza..... İmza..... İmza.....

Doç. Dr. Hakan ÖZKAN
DANIŞMAN

Prof.Dr. Salih KAFKAS
ÜYE

Doç. Dr.Celalettin BARUTÇULAR
ÜYE

Bu Tez Enstitümüz Biyoteknoloji Anabilim Dalında Hazırlanmıştır.

Kod No:

Prof. Dr. Aziz ERTUNÇ
Enstitü Müdürü
İmza ve Mühür

Bu çalışma TÜBİTAK (TOVAG, 107O207) ve Çukurova Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi (Proje no: ZF2007YL28) tarafından desteklenmiştir.

Not: Bu tezde kullanılan özgün ve başka kaynaktan yapılan bildirişlerin, çizelge, şekil ve fotoğrafların kaynak gösterilmeden kullanımı, 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanunundaki hükümlere tabidir.

ÖZ

YÜKSEK LİSANS

EKMEKLİK VE MAKARNALIK BUĞDAY ÇEŞİTLERİNDE 1AL.1RS VE 1BL.1RS ÇAVDAR TRANSLOKASYONLARI İLE CÜCELİK GENLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Fulya Eylem YEDİAY

ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOTEKNOLOJİ ANA BİLİM DALI

Danışman : Doç.Dr. Hakan ÖZKAN
Yıl : 2009, Sayfa: 52
Jüri : Doç. Dr. Hakan ÖZKAN
Prof. Dr. Salih KAFKAS
Doç. Dr. Celaleddin BARUTÇULAR

1931 yılından günümüze kadar tescil ettirilmiş 111 adet ekmeklik ve 26 adet makarnalık buğday çeşidi ile köy çeşidinin materyal olarak kullanıldığı bu çalışmanın amacı, cücelik genlerinin (*Rht-B1* ve *Rht-D1*) allelik durumları ile bu çeşitlerin 1AL.1RS ve 1BL.1RS buğday-çavdar translokasyonlarını taşıyıp taşımadığını saptamaktır.

Çalışma sonucunda, 102 adet ekmeklik buğday çeşidinden 62 adet ekmeklik buğday çeşidinin *Rht-B1a* (uzun tip) allelini, 40 adet ekmeklik buğday çeşidinin *Rht-B1b* (cüce tip) allelini taşıdığını belirlenmiştir. Araştırmada incelenen 26 adet makarnalık buğday çeşidinin 16 adedinin *Rht-B1a* (uzun tip) allelini, 10 adedinin ise *Rht-B1b* (cüce tip) allelini taşıdığı saptanmıştır. Sonuç olarak incelenen 128 adet ekmeklik ve makarnalık buğday çeşidinin %39'u *Rht-B1b* cüce alleli taşıırken %61'i *Rht-B1a* uzun alleli taşıdığı tespit edilmiştir. İncelenen 92 adet ekmeklik buğday çeşidinden 4 adet ekmeklik buğday çeşidinin (%4.3) *Rht-D1b* (cüce tip) allelini taşıdığı tespit edilmiştir.

Çalışmada 1AL.1RS ve 1BL.1RS çavdar translokasyonu için incelenen 137 adet ekmeklik ve makarnalık buğday çeşidi içerisinde sadece 5 adet ekmeklik buğday çeşidinin 1BL.1RS çavdar translokasyonunu taşıdığı belirlenmiş, ancak 1AL.1RS çavdar translokasyonu tespit edilmemiştir. Araştırma sonucunda Türkiye'de yetiştirilen 137 adet buğday çeşidinin %2.9'unun 1BL.1RS çavdar translokasyonunu taşıdığı tespit edilmiştir.

Bu araştırma sonucunda PCR'a dayalı DNA markörlerinin buğday ıslahında amaca uygun olarak hem tanımlamada hem de Marköre Dayalı Seleksiyon ıslahında rahatlıkla kullanılabileceği gösterilmiştir.

Anahtar Kelimeler : Buğday, Cücelik Geni, *Secale cereale*, Buğday-çavdar Translokasyonu,

ABSTRACT

MSc THESIS

A RESEARCH TO STUDY THE 1AL.1RS AND 1BL.1RS RYE TRANSLOCATIONS AND ALLELIC VARIATION OF DWARFING GENES IN BREAD AND DURUM WHEAT CULTIVARS

Fulya Eylem YEDİAY

DEPARTMENT OF BIOTECHNOLOGY
INSTITUTE OF NATURAL AND APPLIED SCIENCES
UNIVERSITY OF ÇUKUROVA

Supervisor : Assoc. Prof. Dr. Hakan ÖZKAN
Year : 2009, Pages: 52
Jury : Assoc. Prof. Dr. Hakan ÖZKAN
Prof. Dr. Salih KAFKAS
Assoc. Prof. Dr. Celalettin BARUTÇULAR

The objective of present work is to found allelic variation for dwarfing genes (*Rht-B1*, *Rht-D1*) and also to see the presence or absence of 1AL.1RS and 1BL.1RS wheat-rye translocation in the wheat. From 1931 to date, registered 111 bread wheat, 26 durum wheat varieties and some landraces from Turkey were used as a plant material in this study.

The results of this study showed that 62 out of 102 bread wheat cultivars contained *Rht-B1a* allele while, 40 varieties carried *Rht-B1b* allele. In the studied 26 durum wheat genotypes, sixteen durum wheat cultivars carried *Rht-B1a* allele, whereas other 10 varieties contained *Rht-B1b* allele. The frequency of dwarfing genes *Rht-B1b* and *Rht-B1a* was determined as 39% and 61% respectively in the examined 128 bread and durum wheat genotypes. In addition to this, 4 out of 92 bread wheat varieties (4.3%) also carried *Rht-D1b* allele (dwarf allele).

To study the 1AL.1RS and 1BL.1RS rye translocations, total of 137 bread and durum wheat cultivars were screened. The results revealed that only 5 bread wheat varieties carried 1BL.1RS translocation, whereas no 1AL.1RS translocation had been observed. Only 2.9% 1BL.1RS rye translocation was determined in the studied 137 Turkish wheat varieties. In conclusion, PCR based DNA analysis had been proven as a powerful tool for identification of genotypes and marker assisted selection in wheat breeding.

Key Words: Wheat, Dwarfing Gene, *Secale cereale*, Wheat-rye Translocation

TEŞEKKÜR

Bana bu konu üzerinde çalışma fikrini veren, laboratuvar olanaklarından faydalanmamı sağlayan ve çalışmalarımın her aşamasında bilgi, deneyim ve önerileriyle yardımcı olan danışman hocam Doç. Dr. Hakan ÖZKAN'a teşekkür ederim.

Bütün öğrenim hayatım boyunca beni hep destekleyen ve sabrını esirgemeyen aileme ve özellikle biricik annem Emine YEDİAY'a sonsuz teşekkürü bir borç bilirim.

İÇİNDEKİLER	SAYFA
ÖZ.....	I
ABSTRACT.....	II
TEŞEKKÜR.....	III
İÇİNDEKİLER.....	IV
ÇİZELGELER DİZİNİ	V
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	VI
SİMGELER ve KISALTMALAR.....	VII
1. GİRİŞ.....	1
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR.....	4
2.1. Cücelik Genleri.....	5
2.2. Buğday-Çavdar Translokasyonları.....	8
3. MATERYAL ve METOD.....	11
3.1. Materyal.....	11
3.1.1. Bitki Materyali.....	11
3.2. Metod.....	14
3.2.1. DNA İzolasyonu.....	14
3.2.2. DNA Konsantrasyonunun Belirlenmesi.....	15
3.2.3. Cücelik Genlerinin Analizi.....	16
3.2.4. Buğday-Çavdar Translokasyonlarının Analizleri.....	18
3.3. Verilerin Değerlendirilmesi.....	21
4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA.....	22
4.1. Cücelik Genleri.....	22
4.2. Buğday-Çavdar Translokasyonu.....	31
5. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	40
KAYNAKLAR.....	43
ÖZGEÇMİŞ.....	52

ÇİZELGELER DİZİNİ

SAYFA

Çizelge 3.1.	Araştırmada Kullanılan Ekmeklik ve Makarnalık Buğday Çeşitlerinin İsmi, Tescil Yılı ile Yerel Çeşitlerinin İsimleri.....	12
Çizelge 3.2.	Araştırmada Cücelik Genleri ve Buğday-Çavdar Translokasyonları İçin Standart Olarak Kullanılan Ekmeklik ve Makarnalık Buğday Genotiplerinin Adları.....	14
Çizelge 3.3.	Cücelik Genlerini Tanımlamada Kullanılan Primer Adları, DNA Dizilimleri ve Referansları	17
Çizelge 3.4.	1AL.1RS ve 1BL.1RS Buğday-Çavdar Translokasyonlarının Belirlenmesinde Kullanılan Primer Adları, DNA Dizilimleri ve Referansları.....	20
Çizelge 4.1.	<i>RhtB1</i> ve <i>RhtD1</i> Cücelik Genlerinin Tanımlanmasında Kullanılan Kontrol Genotiplerle Yapılan PCR Analiz Sonuçları.....	24
Çizelge 4.2.	Araştırmada Kullanılan Ekmeklik Buğday Çeşitlerinde <i>Rht-B1</i> ve <i>Rht-D1</i> Genlerinin Allellik Durumları.....	27
Çizelge 4.3.	Araştırmada Kullanılan Makarnalık Buğday Çeşitlerinde <i>Rht-B1</i> ve <i>Rht-D1</i> Genlerinin Allellik Durumları.....	30
Çizelge 4.4.	1AL.1BL ve 1BL.1RS Buğday-Çavdar Translokasyonlarını Tanımlamada Kullanılan Çavdarın 1RS Kromozomu İçin Spesifik DNA Markörleri, Kullanılan Translokasyonların İsmi ve Analiz Sonuçları.....	35
Çizelge 4.5.	1AL.1RS ve 1BL.1RS Buğday-Çavdar Translokasyonlarının Türkiye’de Yetiştirilen Ekmeklik ve Makarnalık Buğday Çeşit ve Genotiplerinde Durumu.....	37

ŞEKİLLER DİZİNİ

SAYFA

Şekil 3.1	Çukurova Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Toprak Bölümü Serasında Yetiştirilen Buğday Genotipleri.....	11
Şekil 3.2.	Otuzbeş Adet Buğday Çeşitinden Elde Edilmiş DNA Konsantrasyonu ve Kalitesine Ait Bir Görüntü.....	16
Şekil 3.3.	Otuzyedi Adet Buğday Çeşitinden Elde Edilen ve PCR Analizlerinde Kullanılmak Üzere Hazırlanan 5 ng/ul'ye Ayarlanmış DNA Örnekleri.....	16
Şekil 4.1.	<i>Rht-B1a</i> (uzun tip) Alleli İçin NH.BF2-WR1.2 Primer Kombinasyonu Kullanılarak Yapılan “Gradient” PCR Sonuçları...	23
Şekil 4.2.	<i>Rht-B1a</i> (uzun tip) Alleli ve <i>Rht-B1b</i> (cüce tip) Alleli Belirlenen Bazı Çeşitler.....	23
Şekil 4.3.	Otuziki Ekmeklik Buğday Çeşidinde <i>Rht-D1b</i> (cüce tip) Allelini Belirlemek İçin Yapılan PCR Analiz Sonucu.....	25
Şekil 4.4.	Otuziki Ekmeklik Buğday Çeşidinde <i>Rht-D1a</i> (uzun tip) Allelini Belirlemek İçin Yapılan PCR Analiz Sonucu.....	25
Şekil 4.5.	1AL.1RS ve 1BL.1RS Buğday-Çavdar Translokasyonlarında Çavdarın 1RS Kromozomu için Spesifik Bazı DNA Markörlerinin Sonuçları	33
Şekil 4.6.	1AL.1RS ve 1BL.1RS Çavdar Translokasyonlarında O-SEC-A / O-SEC-R DNA Markörü Kullanılarak Yapılan PCR Analiz Sonuçları.....	34
Şekil 4.7.	1AL.1RS ve 1BL.1RS Buğday-çavdar Translokasyonlarında RYE-NOR DNA Markörü Kullanılarak Yapılan PCR Analiz Sonuçları.....	36

SİMGELER VE KISALTMALAR

bç	:	Baz çifti
CTAB	:	Cetil Trimetil Amonyum Bromit
dk	:	dakika
dATP	:	Deoksi Adenozin Trifosfat
dCTP	:	Deoksi Sitidin Trifosfat
dGTP	:	Deoksi Guanozin Trifosfat
dTTP	:	Deoksi Timidin Trifosfat
DNA	:	Deoksiribonükleik asit
EDTA	:	Etilendiamin Tetraasetikasit
HCl	:	Hidroklorik asit
M	:	Molar
MA	:	Moleküler Ağırlık
Mg	:	Miligram
MgCl ₂	:	Magnezyum Klorür
ml	:	Mililitre
mM	:	Milimolar
NaCl	:	Sodyum Klorür
ng	:	Nanogram
PCR	:	Polimeraz Zincir Reaksiyonu
Taq	:	Thermus Aquaticus
TBE	:	Tris/ Borat/ EDTA (Tampon Çözelti)
Tris	:	Tris (Hidroksil Metil) Aminometan
Tris HCl	:	Tris Hidroklorür
UV	:	Ultraviolet
μM	:	Mikromolar
μl	:	Mikrolitre

1. GİRİŞ

Buğday grubu olarak adlandırılan *Triticum* ve *Aegilops*, Gramineae familyasının, Triticeae takımına girmektedir. *Triticum* ve *Aegilops* koromozom sayısına göre diploid ($2n=14$), tetraploid ($2n=28$) ve hekzaploid ($2n=42$) olmak üzere üç gruba ayrılır (Salamini ve ark., 2002). Kültürü yapılan buğdaylar diploid buğdaylar; *T. monococcum* ssp. *monococcum* ($2n=14$, AA genomu), iki tetraploid buğday; *T. turgidum* ssp. *durum* ($2n=28$, BBAA genomu) ve *T. timopheevi* ssp. *timophevii* ($2n=28$, GGAA genomu) ve bir hekzaploid buğday; *T. aestivum* ssp. *aestivum* ($2n=42$, BBAADD) olarak dört grup altında toplanır.

Buğdayın orijin merkezi, Verimli Hilal denen bugünkü İran, Irak, Türkiye, Suriye, Lübnan, İsrail ve Filistin'i kapsayan bölgedir (Salamini ve ark. 2002). İnsanlar besleyici değeri yüksek olan buğdayı önceleri doğadan toplamışlar ve zaman içerisinde buğdayı kültüre alarak bugünkü duruma getirmişlerdir. Özellikle bu evrimleşme sürecinin hem diploid hem de tetraploid buğday için Güneydoğu Anadolu bölgesinde, daha özel olarak da Diyarbakır ve çevresinde, olduğu yapılan çalışmalarda rapor edilmiştir (Heun ve ark., 1997; Salamini ve ark., 2002; Özkan ve ark., 2002; Özkan ve ark., 2005)

Buğday dünyada en fazla ekimi yapılan bir tahıl türüdür. Türkiye, buğday üretiminde dünya genelinde en büyük on üreticiden birisidir. Türkiye'nin toplam buğday üretimi yıldan yıla değişmekle birlikte 16-21 milyon ton civarında olup (bunun 4-6 milyon tonu makarnalık buğday) toplam ekim alanı 9-9.5 milyon hektardır (Altıntaş ve ark., 2008). Türkiye, farklı ekolojik bölgelere sahip olmasından dolayı, elde edilen verim bakımından bölgeler arasında farklılıklar olmakla beraber, ortalama buğday verimi 200-220 kg/da civarındadır.

Türkiye'de buğday ıslahı 1925 yılında Eskişehir'de başlamıştır. İlk defa 1931 yılında yerel popülasyondan seçilen bir genotip "Ak-702" olarak tescil edilmiştir. Bunu hem yerel popülasyonlardan hem de melezleme ıslahı programlarından geliştirilmiş çeşitler izlemiştir. Özellikle "Yeşil Devrim"den sonra Türkiye'nin Rockefeller Vakfı-Oregon Devlet Üniversitesi-USAID-CIMMYT ile başlatmış olduğu ulusal buğday projesi ile kısa zamanda buğday verimi ikiye katlanmıştır.

Özellikle ülkemize kısa boylu yazlık çeşitlerin girmesiyle ülkemizdeki tarımsal üretim yeni bir boyut kazanmıştır.

Türk buğdaylarının endüstriyel kalite açısından yüksek potansiyele sahip olduğu düşünülmektedir. Bugün Türkiye’de çoğunlukla ekmek yapımı amacıyla yumuşak daneli ekmeklik buğday üretilmektedir. Genellikle tüketiciler tarafından beyaz daneli buğdaylar tercih edilmesine rağmen, hem kırmızı hem de beyaz daneli buğdaylar piyasada bulunabilmektedir. Özellikle ekmeklik kalitesinin artırılması için değirmende beyaz daneli buğdaylar, kırmızı daneli buğdaylarla karıştırılarak paçal yapılmaktadır. Dünyada en yüksek buğday tüketimine sahip ülkelerden birisi 200 kg/kişi/yıl ile Türkiye’dir (Pingali, 2006). Buğday ürünleri Türkiye’de temel yiyecek durumunda olup farklı şekillerde tüketilmektedir. Genellikle ekmeklik buğday, büyük şehirlerde, fransız tipi beyaz ekmek yapımında, küçük kentler ve kırsal kesimlerde ise pide, yufka, vb. diğer birçok ürünün yapımında kullanılmaktadır. Makarnalık buğday ise yoğun olarak makarna ve bulgur yapımında değerlendirilmektedir.

Son yıllarda DNA teknolojisindeki gelişmeler ve buna bağlı olarak geliştirilen farklı DNA markör sistemleri buğday ıslahında kullanılmaya başlanmıştır. DNA markörlerinin buğday ıslahında kullanılması “Yeni Yeşil Devrim” olarak nitelendirilmektedir. Özellikle DNA teknolojisinin gelişmesi ve istenen genlere bağlı olan DNA markörlerinin bulunması, buğday ıslahçılarının yeni stratejiler geliştirmesine olanak sağlamıştır. Marköre Dayalı Seleksiyon (MDS) ıslahı olarak isimlendirilen bu yöntemin esas başarısı, kullanılan DNA markörünün istenen gen ile bağlı olup olmamasına bağlıdır. Özellikle son yıllarda yapılan, bulk açılım analizi, QTL ve gen klonlama çalışmaları sonucunda kalite, hastalıklara ve zararlılara karşı dayanıklılık vb., özelliklerle doğrudan veya dolaylı olarak ilişkili birçok DNA markörü geliştirilmiştir. Geliştirilen bu DNA markörleri buğday ıslahında yoğun olarak kullanılmaktadır.

Ülkemizde buğday ıslahının başladığı 1925 yılından günümüze kadar geliştirilen buğday çeşitlerinin genetik yapısı hakkında elimizde ne yazık ki detaylı bilgi bulunmamaktadır. Özellikle buğday ıslahı çalışmalarında kullanılan anaçların genetik yapısının bilinmesi ve amaca göre melezleme çalışmalarının yapılması önem

arz etmektedir. Bundan dolayı bu çalışmanın konusu 1931 yılından günümüze kadar ticari olarak yetiştirilen bazı ekmeklik ve makarnalık çeşitlerin 1BL.1RS ve 1AL.1RS çavdar translokasyonu taşıyıp taşımadığının belirlemek ve sahip oldukları cücelik genleri bakımından allellik durumlarını saptamaktır.

2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

Buğdayın dünyada yaygın olarak yetiştirilen iki tipi vardır. Bunlar, ekmeklik ve makarnalık buğdaydır. Özellikle makarnalık buğdayın Verimli Hilal bölgesinde, özellikle de Türkiye'nin Güneydoğu Anadolu bölgesinde bundan tam 10 bin yıl önce kültüre alındığı bildirilmiştir (Özkan ve ark., 2002; 2005). Ekmeklik buğdayın ise Hazar denizinin güneyinde kültüre alındığı rapor edilmiştir (Salamini ve ark., 2002). Buğday dünyada en fazla ekimi yapılan bir tahıl türüdür. Türkiye, buğday üretiminde dünya genelinde en büyük on üreticiden birisidir. Türkiye'nin toplam buğday üretimi yıldan yıla değişmekle birlikte 16-21 milyon ton civarında olup (bunun 4-6 milyon tonu makarnalık buğday) toplam ekim alanı 9-9.5 milyon hektardır (Altıntaş ve ark., 2008). Türkiye, farklı ekolojik bölgelere sahip olmasından dolayı, elde edilen verim bakımından bölgeler arasında farklılıklar olmakla beraber, ortalama buğday verimi 200-220 kg/da civarındadır.

Türkiye'de buğday ıslahı 1925 yılında Eskişehir'de başlamıştır. 1925 yılından günümüze 100'den fazla ekmeklik buğday ve 50'den fazla makarnalık buğday çeşidi tescil ettirilmiştir. Özellikle, ülkemizin Rockefeller Vakfı-Oregon Devlet Üniversitesi-USAID-CIMMYT ile başlatmış olduğu ulusal buğday projesi sayesinde bu çeşit sayısı son yıllarda artmıştır. Ancak bu program, ülkemizde yürütülen buğday ıslah programlarının dışarıya bağımlı olmasına zemin hazırlamıştır (Altıntaş ve ark., 2008).

Çavdar (*Secale cereal L.*) Gramineae familyasının, Triticeae takımında yer alan diploid ($2n=14$, RR) bir bitkidir. Çavdarın 8000-8500 yıl önce ilk defa Verimli Hilal bölgesi içersinde, özellikle de Abu-Humeyra/Suriye ve Can Hasan-Türkiye'de kültürü alındığı tahmin edilmektedir (Hillman, 2000; Salamini ve ark., 2002; Weiss ve ark., 2006). Soğuğa en dayanıklı tahıl olan çavdar yüksek yerleri, kumlu ve gevşek toprakları sevmektedir. Rusya, İskandinav ülkeleri gibi kışları çok sert geçen yörelerde bile yetiştirilebilmektedir. Tarımına elverişli olmayan topraklarda çavdar diğer tahıl ürünlerine göre daha iyi ürün vermektedir.

Tahıllarda verim kaybına neden olan hastalık ve zararlılara karşı 1AL.1RS ve 1BL.1RS buğday-çavdar translokasyonu taşıyan hatların dayanıklı olduğu

bildirilmiştir. Bundan dolayı, buğday-çavdar translokasyonları yoğun olarak buğday ıslahında kullanılmış ve halen kullanılmaya devam edilmektedir.

Son yıllarda gelişen yeni teknolojiler, buğday ıslahında ıslahçılara yeni olanaklar sunmaktadır. Özellikle, verim ve verimle ilgili genlerin tanımlanması ve bunların klonlanması önem arz etmektedir. Bu bilgiler ışığı altında geliştirilen DNA markörleri buğdayda “Marköre Dayalı Seleksiyon” ıslahında yoğun olarak kullanılmaktadır. Özellikle cücelik genleri ve buğday-çavdar translokasyonlarının tanımlanması üzerinde çalışmalar yoğunlaşmıştır. Bu konular ile ilgili detaylı literatür araştırması yapılmış ve her konu kendi içerisinde aşağıda verilmiştir.

2.1 Cücelik Geni

Buğday ıslahında farklı gen kaynaklarının bulunup amaca göre kullanılması özellikle 1900’lü yıllarda başlamış ve günümüze kadar gelmiştir. Özellikle son 40-50 yılda yabani buğday gen kaynaklarından klasik melezleme yolu ile ekmeklik ve makarnalık buğday çeşit ve hatlarına birçok gen aktarılmıştır. Özellikle 1960 yılların başında, Amerika Birleşik Devleti ve CIMMYT (Uluslararası Mısır ve Buğday Geliştirme Merkezi- International Maize and Wheat Improvement Center) Meksika’da başlayan buğday ıslahı programı içerisinde *Rht-B1b* (*Rht1*) ve *Rht-D1b* (*Rht2*) yarı cücelik genleri, ticari buğday çeşitlerine bir Japon çeşidi olan Norin-10’dan transfer edilmiş ve yeşil devrim gerçekleşmiştir (Ellis ve ark, 2002). Bu genler özellikle bitki boyunun kısılmasını, yatmaya dayanıklılığı ve danede asimilat miktarının artmasını sağlayarak verimi arttırmıştır (Evans, 1993). Bu cücelik genlerinin ticari çeşitlere aktarılmasıyla görülen verim artışından sonra bu cücelik genlerini taşıyan buğday çeşitleri dünyaya yayılmıştır (Gale ve Youssefian, 1985).

Şimdiye kadar bitki boyundaki kısılmaya önemli etkisi olan ve *Rht* simgesiyle tanımlanan 21 tane gen belirlenmiştir (McIntosh et al., 1995). Bu genlerden *Rht-B1b* (*Rht1*) ve *Rht-D1b* (*Rht2*) yarı cücelik genleri dünyada yaygın olarak kullanılmaktadır (Gale and Youssefian, 1985 ; Gent and Kiyomoto, 1998). Bu iki gen bitki boyunda benzer etkilere sahip olmasına rağmen *Rht2* geninin *Rht1* den

daha kuvvetli bir etkiye sahip olduğu bildirilmiştir (Allan 1970; Börner ve ark. 1993).

Cücelik genleri gibberilik asite gösterdikleri tepkiye göre iki grup altında toplanmaktadır (Gale ve Gregory, 1977; Börner ve ark., 1996). Gibberilik asite duyarlı olan genler 2A (Worland ve ark, 1980), 2D (Worland ve ark. 1986), 5A (Sutka ve ark. 1987) ve 7B (Worland ve ark. 1990) kromozomlarında bulunmakta iken gibberilik asite karşı tepkisiz olan genler 4B ve 4D (Gale ve ark. 1975; Mc Vittie ve ark.1978) kromozomlarında kısa kolunda bulunmaktadır. İlk defa Peng ve ark., (1997, 1999), 4B ve 4D kromozomlarının kısa kolunda bulunan *Rht-B1b* ve *Rht-D1b* homoelogenous genlerini buğdaydan izole etmişler ve tanımlamışlardır. *Rht-B1a* ve *Rht-D1a* genleri gibberilik asit testine duyarsız olmakta, cüceliği sağlayan mutant alleller (*Rht-B1b* ve *Rht-D1b*) ise gibberilik asit testine duyarlı olmaktadır (Gale ve Gregory,1977; Richards, 1992). Gibberilik asit testi hem uzun zaman almakta hem de bazen güvenilir sonuçlar vermemektedir. Bu yüzden araştırmacılar bu genlere bağlı DNA markörü geliştirme yoluna gitmişlerdir. Ellis ve ark., (2002) her iki mutant (kısa boylu) *Rht-B1b* ve *Rht-D1b* ile her iki normal (uzun boylu) alleli tanımlayacak PCR markörü geliştirmiş ve bu markörlerin başarılı bir şekilde buğday ıslahında kullanılabileceğini göstermişlerdir.

Ellis ve ark. (2002), *Rht-B1* ve *Rht-D1* genlerini belirlemek için geliştirdikleri DNA markörleri ile analiz ettikleri 19 adet buğday çeşidinin bitki boylarında da ölçüm yapmış ve bu iki sonucu ilişkilendirmişlerdir. Buna göre *Rht-B1b* ve *Rht-D1b* mutant (cüce tip) allellerinin her ikisinin birlikte bulundukları durum ile bitki boyundaki kısılma arasında kuvvetli bir korelasyon olduğunu saptamışlardır. Bununla birlikte *Rht-D1b* allelinin bitki boyudaki kısılmaya *Rht-B1b* allelinde daha fazla etki ettiğini belirlemişlerdir. Ayrıca *Rht-B1* ve *Rht-D1* genlerini belirlemek için geliştirmiş oldukları DNA markörlerinin anaç seçiminde kolaylık sağlayacağını bildirmişlerdir.

Yang ve Liu (2006) Çin orjinli 421 buğday çeşidinde Ellis ve ark.'nın (2002) geliştirmiş oldukları DNA markörlerini kullanarak yapmış oldukları çalışmada, araştırmada kullandıkları buğday çeşit ve genotiplerinin % 43.5'nin *Rht-D1* geninin *Rht-D1b* allelini taşıdığını bildirmişlerdir.

Kısa boyluluğun keşfedilmesi ve buğday ıslahında yoğun olarak kullanılmaya başlanmasıyla cücelik ile ilgili farklı alleller bulunmuş ve bunlar buğday ıslahında yoğun olarak kullanılmaya başlanmıştır. Bunlardan Akdeniz iklim kuşağına sahip bölgelerde yetiştirilen ekmeklik buğdaylar için önemli olan ve 2D kromozomunun kısa kolunda bulunan *Rht8* genidir. *Rht8* geninin orijini Akakomugi adlı bir Japon çeşidi olup Akdeniz iklim kuşağına sahip bölgelerde yürütülen ıslah çalışmalarında yoğun olarak kullanılmış ve halen kullanılmaktadır (Ahmad ve Sorrels, 2002). Korzun ve ark., (1998) *Rht8* geni ile ilişkili olarak yapmış olduğu bir araştırmada, Xgwm 261 mikrosatellit DNA markörünün bu genle bağlantılı olduğunu bildirmişlerdir. Ahmad ve Sorrels (2002) Xgwm 261 mikrosatellit DNA markörünü kullanarak farklı ülkelerdeki buğday çeşitlerinde *Rht8* allelinin dağılımını incelemişler ve bu genin yoğun olarak Akdeniz iklim kuşağına sahip ülkelerde bulunduğunu rapor etmişlerdir. Worland ve ark. (1998), dünya genelinde yetiştirilen 100 den fazla buğday çeşidinde WMS 261 mikrosatellit DNA markörü kullanılarak *Rht8* geninin allellerini araştırdıkları bu çalışmada, araştırma sonucunda 165 bç, 174 bç, 192 bç ve 200 bç uzunluğunda allellerinin görüldüğünü ve 174 bç uzunluğundaki allelin İngiltere, Almanya ve Fransa’da yetiştirilen ekmeklik buğday çeşitlerinde yaygın olarak bulunduğunu bildirmişlerdir. Liu ve ark. (2005), 506 buğday çeşit ve hattında (408 Çin orjinli + 98 yabancı orjinli) *Rht8* geni ile ilişkili Xgwm 261 lokusunun allelik varyasyonunu araştırdıkları bu çalışmada, toplam 13 farklı allel bulunduğunu (164, 174, 192, 190, 194, 196, 200, 202, 204, 206, 210, 212, 216 bç) ve bunlardan 164, 174, 192 ve 204 bç lik allellerin Çin’de en yaygın alleler olduğunu bildirmişlerdir.

Yapılan son araştırmalarda ise İtalya’nın ünlü buğday ıslahçısı Stampelli’nin Akakomugi isimli bir Japon çeşidini 1940 yılların başında kendisinin yapmış olduğu buğday melezlemelerinde kullandığı ve bundan dolayı da *Rht8* geninin Avrupa’ya bu yolla yayıldığı ortaya çıkarılmıştır (Borojevic ve Borojevic, 2005). Özellikle bu gen üzerine yapılan çalışmalarda, *Rht8* cücelik geni ile *Ppd-D1* gün ışığına duyarlılığı sağlayan genin 2D kromozomu üzerinde olduğu, bu iki genin birbirine bağlı olarak çalıştığı, bu iki genin bitki boyunu 10 cm kısalttığı, başakta başakçık fertilitasını arttırdığı ve başaklanmayı da yaklaşık olarak 8 gün öne getirdiği gösterilmiştir (Gale

ve Youssefian, 1985; Korzun ve ark., 1998). Sally ve ark., (2007) yapmış oldukları bir çalışmada, *Rht8* geni ile ilişkili Xgwm 261 lokusunun 165 bç'lik allelinin *Rht-B1a* geni ile birlikte bulunduğu buğday çeşitlerinde, bu allellerin birlikte bitki boyunu kısalttığını, koleoptil boyunu uzattığını ve hektolitre ağırlığını attırdığını bildirmişlerdir.

2.2 Buğday-Çavdar Translokasyonları

Çavdar (*Secale cereale*) buğday ıslahı için önemli bir gen kaynağıdır. Çavdar kromozomları bakımından yedekli hatlar veya buğday-çavdar translokasyonları kullanılarak çavdar gen/genleri veya kromozom parçaları farklı buğday çeşitlerine aktarılmıştır (Lukaszewski ve Gustafson, 1983). Onaltıdan fazla farklı buğday-çavdar translokasyonları tanımlanmıştır (Jiang ve ark., 1994; Friebe ve ark., 1996). Bu translokasyonlar içerisinde 1AL.1RS ve 1BL.1RS buğday-çavdar translokasyonları, tetraploid ve hekzaploid buğday ıslahında yaygın olarak kullanılmıştır (Friebe ve ark., 1987; Lukaszewski, 1990; Villareal, 1991). 1BL.1RS buğday-çavdar translokasyonunun doğal olarak meydana geldiği Mettin ve ark., (1973) ve Zeller (1973) isimli araştırmacılar tarafından rapor edilmiştir. Daha sonra bu translokasyon, “Aurora” ve “Kavkaz” isimli Rus orijinli ekmeklik buğday çeşitlerine aktarılmıştır (Zeller ve Hsam, 1983). Schegel ve Korzun (1997), 1BL.1RS buğday-çavdar translokasyonunda 1RS kromozomunun “Pektus” çavdar çeşidinden geldiğini bildirmişlerdir. 1AL.1RS translokasyonunda 1RS kromozomu ise “İnsave” çeşidinden aktarılmıştır (Sebesta ve Wood, 1978).

Buğday-çavdar translokasyonuna sahip buğday çeşitleri diğer buğday çeşitlerine kıyasla biyotik ve abiyotik stres koşullarına daha yüksek tolerans göstermektedirler. 1AL.1RS translokasyonunun; kara pasa, küllemeye ve green bug zararlısına karşı direnç genleri taşıdığı bildirilmiştir (Sebesta ve Wood, 1978; Porter ve ark., 1994; Sebesta ve ark., 1994). Çavdar çeşidine bağlı olarak, 1BL.1RS buğday-çavdar translokasyonu, taşımış olduğu çavdar kromozomunun orijinine göre değişmekle birlikte külleme ve sarı pasa karşı dayanıklılık sağladıkları bildirilmiştir (Zeller, 1973; McIntosh, 1983; Mettin ve ark., 1973; Zeller ve Fuchs., 1983; Heun ve

Fischbeck., 1987). Külleme, kara pas ve kahverengi pas hastalıkları için bazı genler 1RS kromozomunda haritalanmıştır (Hsam ve ark., 2000).

1AL.1RS ve 1BL.1RS buğday çavdar translokasyonları aynı zamanda buğday verimi ve adaptasyonunda da önemli pozitif etkilere sahiptir. Bazı araştırmacılar, 1BL.1RS translokasyonunu taşıyan buğday genotiplerinin dane verimini, dane ağırlığını, biomasını ve başak fertilitatesini olumlu yönde etkilediklerini bildirmişlerdir (Schegel ve Meinel,1994; Moreno-Sevilla ve ark. 1995).

Kuraklık dünyadaki birçok üreticinin mücadele ettiği küresel bir problemdir. Özellikle gelişmekte olan ülkelerde kuraklık her yıl yüksek oranda verim kayıplarına neden olmaktadır. Özellikle tahıllarda su stresi ile ilişkili olarak bir çok genetik çalışma yapılmış, farklı genlerin ve bunların allellerinin bu özellikle ilişkili olduğu bildirilmiştir (Nguyen ve ark., 2004; Quarrie ve ark., 2005; Diab ve ark., 2004). Faoulkes ve ark. (2002) İngiltere’de yapmış oldukları bir çalışmada sulamalı ve sulamasız koşullarda yetiştirilen buğday hatlarında üç fizyolojik özelliği (suda çözünebilir karbonhidratların sapta birikimi, çiçeklenme zamanı, bayrak yaprağının yeşil kalma yüzdesi) incelemişlerdir. Bu araştırma sonunda araştırmacılar, sapta biriken suda çözünebilir karbonhidrat ile dane verimi arasında her iki koşulda da pozitif ilişki bulmuşlardır. Bir başka çalışmada ise Faoulkes ve ark. (2004) İngiltere’de yetiştirilen buğday çeşitlerinde, sapta suda çözünebilir karbonhidrat ile çeşitlerin 1BL.1RS çavdar translokasyonuna sahip olup olmaması arasında bir ilişki olduğunu rapor etmişlerdir. Ehdaie ve ark., (2003) yapmış oldukları bir çalışmada, 1RS translokasyonu taşıyan “Pavon” çeşidinde kök biomasının fazla geliştiğini bununda kurağa dayanıklılığını arttırdığını rapor etmişlerdir. Ancak yukarıda ifade edilen özellikleri taşıyan genlerin hem bu genlerin sağlayıcısı olan çavdar genotipine göre hem de bu çavdar kromozomunun aktarıldığı buğday çeşidinin genetik yapısına göre değiştiği rapor edilmiştir (Villareal ve ark.,1998; Austin, 1999). Yukarıda özetlenen sebeplerden dolayı, buğday-çavdar translokasyonları, özellikle 1BL.1RS, uluslararası buğday ıslahı programlarında yoğun olarak kullanılmış ve birçok ekmeklik ve makarnalık buğday çeşidine melezleme ıslahı yöntemiyle aktarılmıştır (Friebe ve ark., 1987; Lukaszewski,1990). Weng ve ark, 2007 Lukaszewski, 1990 Villareal ve ark., 1991;1995;1997).

Herhangi bir buğday çeşidinin buğday-çavdar translokasyonu taşıyıp taşımadığını belirlemek için farklı yöntemler geliştirilmiştir. İlk kullanılan metod morfolojik markörler olmuştur. Ancak, morfolojik markörlerin yetersiz kalması, mayoz bölünmedeki kromozom eşleşmelerinin incelenmesiyle giderilebilmiştir. Fakat mayoz analizlerindeki zorluklar ve bu analizlerin zaman alması yeni tekniklerin geliştirilmesine olanak sağlamıştır. Son yıllarda geliştirilen tekniklerden bazıları: C-bantlama (Gill ve Kimber, 1977; Rayburn ve Carver, 1988), in situ hibridizasyon (Heslop-Harrison ve ark., 1990), ELISA (Enzyme-Linked Immunoabsorbent Assay) (Andrews ve ark., 1996) ve depo protein analizleridir (Zeller ve Fuchs, 1983; Koebner ve Shepherd, 1986). Son zamanlarda ise 1AL.1RS ve 1BL.1RS buğday-çavdar translokasyonlarını belirlemek için PCR'a dayalı DNA markörleri geliştirilmiştir (Koebner, 1995; Shimizu ve ark., 1997; Nadella ve ark., 2002; Nagy ve Lelley, 2003; Weng ve ark., 2007).

Graybosch (2001) ABD'de yapmış olduğu araştırmada, buğday ıslah programlarında yer alan çeşitlerin yaklaşık %25'inin 1AL.1RS ve/veya 1BL.1RS buğday-çavdar translokasyonlarını taşıdığını bildirmiştir. Şimdiye kadar dünya genelinde 1AL.1RS, 1BL.1RS ve 1DL.1RS translokasyonlarını taşıyan yüzlerce çeşit tescil edilmiştir (Friebe ark., 1996; Rabinovich, 1998). Yukarıda ifade edilen metodlar kullanılarak, farklı ülkelerde yetiştirilen ekmeklik ve makarnalık buğday çeşitlerinin çavdar translokasyonu taşıyıp taşımadığı üzerine birçok çalışma yapılmıştır. Örneğin, Köszegi ve ark., (2005) SDS-PAGE ve Giemsa bantlama tekniklerini kullanarak Macaristan buğday çeşitlerinden hangisinin çavdar translokasyonu taşıyıp taşımadığını araştırdıkları bu çalışmada, 66 Macar ekmeklik buğday çeşidinin 35 adedinin (%53) 1BL.1RS buğday-çavdar translokasyonu taşıdığını bildirmişlerdir. Aynı şekilde, Zhou ve ark., (2003) SDS-PAGE yöntemini kullanarak Çin'de yetişen ekmeklik buğday çeşitlerinin %50'sinin 1RS kromozomunu taşıdıklarını rapor etmişlerdir. Landjeva ve ark. (2006) N-bantlama, depo protein analizleri ve DNA markörlerini kullanarak Bulgaristan'da yapmış oldukları çalışmada, 31 Bulgar ekmeklik buğday çeşidinin 17 tanesinin (%55) 1RS çavdar kromozomu taşıdığını rapor etmişlerdir.

3. MATERYALVE METOD**3.1. Materyal****3.1.1. Bitki Materyali**

Bu çalışmada 1931 yılından günümüze kadar tescil ettirilmiş ve yoğun olarak ekimi ve ticareti yapılmış olan 85 adet ekmeklik ve 14 adet makarnalık buğday çeşidi ile uzun yıllarda beri ülkemizin farklı bölgelerinde yerel çeşit olarak yetiştirilen 26 adet ekmeklik ve 12 adet makarnalık yerel çeşidi materyal olarak kullanılmış olup detaylı bilgi Çizelge 3.1’de verilmiştir. Ayrıca cücelik genlerinin ve çavdar translokasyonlarının belirlenmesinde standart olarak, Dr. Weng (Texas Üniversitesi, USA) ve Dr. Endo’dan (Genetic Resource Bank, Kihara Institute for Biological Research, Japan) temin edilen buğday genotipleri kullanılmış olup bunlar hakkında detaylı bilgi Çizelge 3.2’de verilmiştir.

Araştırmada kullanılan tüm buğday genotipleri Kasım-2007’de 3 lt’lik saksılara ekilmiş ve Çukurova Üniversitesi, Ziraat Fakültesi Toprak Bölümüne ait serada yetiştirilmiştir (Şekil 3.1).



Şekil 3.1. Çukurova Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Toprak Bölümü Serasında Yetiştirilen Buğday Genotipleri

Çizelge 3.1. Araştırmada Kullanılan Ekmeklik ve Makarnalık Buğday Çeşitlerinin İsmi, Tescil Yılı ile Yerel Çeşitlerinin İsimleri

Çeşit Adı	Tescil Yılı	Çeşit Adı	Tescil Yılı
<u>Ekmeklik buğday</u>			
Ak-702	1931	Yıldız 98	1998
Yayla-305	1935	Mızrak	1998
Sertak-52	1936	Pehlivan	1998
Sivas-111/33	1937	Türkmen	1998
Melez-13	1944	Gönen 98	1998
4-11	1952	Uzunyayla	1998
P-8.6	1966	Harmankaya 99	1999
P 8.8	1966	Haymana 79	1999
4-22	1966	Flamura 85	1999
Yektay-406	1967	Göksu 99	1999
Bezostaja 1	1968	Karahan 99	1999
Kıraç 66	1970	Yakar 99	1999
Bolal-2973	1970	Golia	1999
Orso	1970	Genç 99	1999
Cumhuriyet 75	1976	Adana 99	1999
Porsuk 2800	1976	Ceyhan 99	1999
Gerek 79	1979	Bayraktar 2000	2000
Kırkpınar 79	1979	Demir 2000	2000
Momtchil	1984	Çetinel 2000	2000
İzmir-85	1985	Altay 2000	2000
Atay-85	1985	Aksel 2000	2000
Çukurova-86	1986	Balattlia	2000
Kate A-1	1988	Tahirova 2000	2000
Genç-88	1988	Nurkent	2001
Doğu-88	1990	İzgi 2001	2001
Gün 91	1991	Pandas	2001
Seri 82	1991	Sagittario	2001
Doğankent 1	1992	Saraybosna	2001
Dağdaş 94	1994	Nenehatun	2001
Kutluk 94	1994	Alparslan	2001
Kaşıfbey 95	1995	Sönmez 2001	2001
Sultan 95	1995	Zincirci 2002	2002
Kırgız 95	1995	Yüreğir 89	2002
Seyhan 95	1995	Soyer 02	2002
İkizce 96	1996	Bağcı 2002	2002
Palandöken 97	1997	Konya 2002	2002
Kınacı 97	1997	Dariel	2002
Süzen 97	1997	Ahmetağa	2004
Bandırma 97	1997	Tosunbey	2004
Karacadağ 98	1998	Ekiz	2004
Ziyabey 98	1998	Menemen	2004
Aytın 98	1998	Gelibolu	2005

Çizelge 3.1'in devamı

Çeşit Adı	Tescil Yılı	Çeşit Adı	Tescil Yılı
<u>Ekmeklik buğday</u>			
Karatoprak	2006	Kırık	Yerel çeşit
Osmaniyem	2006	Conkesme	Yerel çeşit
Aşure	Yerel çeşit	Tir	Yerel çeşit
Mile	Yerel çeşit	Sirena	Bilinmiyor
Sarı Buğday 63886	Yerel çeşit	Saray	Bilinmiyor
Koca Buğday	Yerel çeşit	Luzenouka	Bilinmiyor
Kırmızı Başak	Yerel çeşit	Krasunya	Bilinmiyor
Arpatan	Yerel çeşit	Odesskaya 267	Bilinmiyor
İskenderiye	Yerel çeşit	Nikania	Bilinmiyor
İngiliz Buğdayı	Yerel çeşit	Enola	Bilinmiyor
Sana	Yerel çeşit	Sadova	Bilinmiyor
Topbaş	Yerel çeşit	Milena	Bilinmiyor
Akçabuğday	Yerel çeşit	Tadora	Bilinmiyor
Akbuğday 63897	Yerel çeşit		
<u>Makarnalık Çeşitler</u>			
Fatasel 185/1	1952		
Kunduru 1149	1967		
Çakmak 79	1979		
Gökgöl 79	1979		
Kızıltan 91	1991		
Altıntaş 95	1995		
Harran 95	1995		
Selçuklu 97	1997		
Yılmaz 98	1998		
Sarıçanak	1998		
Ç-1252	1999		
Yelken 2000	2000		
Zenit	2001		
Meram-2002	2002		
Üveyik	Yerel çeşit		
Sarı Bursa	Yerel çeşit		
Aşure Buğdayı	Yerel çeşit		
Durnadili	Yerel çeşit		
Sarı Buğday 63466	Yerel çeşit		
Akbuğday 63445	Yerel çeşit		
Vatan	Yerel çeşit		
Beyaziye	Yerel çeşit		
Sorgül	Yerel çeşit		
Menceki	Yerel çeşit		
Karakılçık	Yerel çeşit		
Bağacak	Yerel çeşit		

Çizelge 3.2. Araştırmada Cücelik Genleri ve Buğday-Çavdar Translokasyonları için Standart Olarak Kullanılan Ekmeklik ve Makarnalık Buğday Genotiplerinin Adları

Kayıt Numarası	Çeşit Adı	Kaynak
KT020-003	Chinese Spring	Dr.T.R.Endo
KT020-005	Turkey Red	Dr.T.R.Endo
KT020-091	Norin-10	Dr.T.R.Endo
KT020-129	İzogenik hat, <i>Rht1Rht2</i> , Norin-10	Dr.T.R.Endo
KT020-130	İzogenik hat, <i>Rht1rht2</i> , Norin-10	Dr.T.R.Endo
KT020-131	İzogenik hat, <i>rht1Rht2</i> , Norin	Dr.T.R.Endo
KT020-132	İzogenik hat, <i>rht1rht2</i> , Norin	Dr.T.R.Endo
Amigo	1AL. 1RS Buğday - Çavdar Translokasyonu	Dr.Y.Weng
N96L9970	1AL. 1RS Buğday - Çavdar Translokasyonu	Dr.Y.Weng
Tam 110	1AL. 1RS Buğday - Çavdar Translokasyonu	Dr.Y.Weng
Tam 303	1AL. 1RS Buğday - Çavdar Translokasyonu	Dr.Y.Weng
Fanin	1AL. 1RS Buğday - Çavdar Translokasyonu	Dr.Y.Weng
KS80H4200	1BL. 1RS Buğday - Çavdar Translokasyonu	Dr.Y.Weng
Freedom	1BL. 1RS Buğday - Çavdar Translokasyonu	Dr.Y.Weng
Veery 'S'	1BL. 1RS Buğday - Çavdar Translokasyonu	Dr.Y.Weng
Kavkaz	1BL. 1RS Buğday - Çavdar Translokasyonu	Dr.Y.Weng
KS91HWGRC14	1BL. 1RS Buğday - Çavdar Translokasyonu	Dr.Y.Weng
TAM 105	Translokasyon Yok	Dr.Y.Weng

3.2. Metod

3.2.1. DNA İzolasyonu

Çukurova Üniversitesi, Ziraat Fakültesi Toprak Bölümüne ait serada yetiştirilen ekmeklik buğday çeşit ve genotiplerinden her çeşidi temsilen 2 bitkiden, 3-4 kardeşli dönemde genç yapraklar hasat edilmiştir. Laboratuvara getirilen bu genç yapraklardan Doyle ve Doyle (1987)'nin bildirmiş olduğu yöntemle göre DNA izolasyonu yapılmıştır. DNA izolasyonunda takip edilen yöntem genel hatları ile aşağıda verilmiştir.

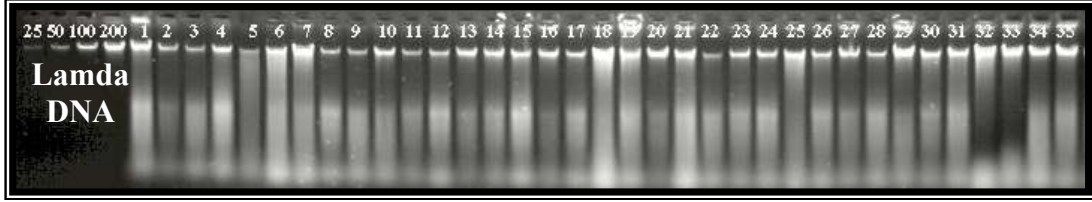
Laboratuvara getirilen örnekler, sıvı azot yardımıyla havanda öğütüldükten sonra 2 ml'lik eppendorf tüplere alınmış ve üzerine 1 ml CTAB (Cetyl Trimethyl Ammonium Bromide) DNA izolasyon çözeltisi eklenmiştir. Daha sonra örnekler 65°C'de 1 saat su banyosunda bekletilmiştir. Örnekler su banyosunda iken her 10 dakikada bir nazikçe çalkalanmıştır. Su banyosundan çıkarılan örnekler, oda

sıcaklığında soğumaya bırakılmış (yaklaşık 15-20 dk) ve daha sonra bu tüplere 0.5 ml kloroform:isoamil alkol karışımı (24:1) eklenmiş ve elde nazikçe 15 dk çalkalanmıştır. Daha sonra tüpler 10 dk süre ile 12 000 rpm'de santrifüj yapılmıştır. Santrifüj yapılan tüplerin üst fazları alınarak 1.5 ml'lik yeni eppendorf tüplere aktarılmıştır. Bu tüplerin üzerine 300 µl isopropanol eklenmiş ve yavaşça tek faz haline getirilerek DNA'nın çökeltilmesi sağlanmıştır. DNA dipte kalacak şekilde tüm sıvı dökülmüş ve DNA örneği içerisinde 10mM Amonyum Asetat bulunan % 76'lık etil alkol ile iki defa yıkanmış ve örnekler oda sıcaklığında bir gece boyunca kurumaya bırakılmıştır. Kuruyan DNA örneklerine 50 µl ddH₂O eklenerek çözülmesi sağlanmış ve çözülen DNA örnekleri -20⁰ C'de saklanmıştır.

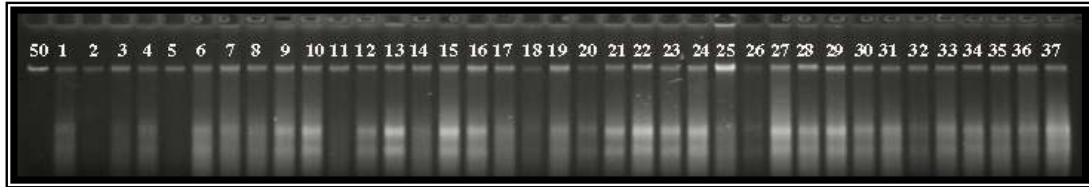
3.2.2. DNA Konsantrasyonunun Belirlenmesi

DNA moleküler markör tekniği ile yapılan bütün çalışmalarda DNA konsantrasyonunun ve kalitesinin bilinmesi çok önemlidir. Bu yüzden DNA konsantrasyonunun iyi ayarlanması gerekmektedir. Elde edilen DNA örneklerinin konsantrasyonunu belirlemek için aşağıda açıklanan protokol uygulanmıştır.

Elde edilen DNA örneğinden alınan 2 µl DNA 0.5 ml'lik eppendorf tüpüne konulmuş, bunun üzerine 4 µl 6X loading buffer (50 mg bromofenol blue + 25 ml glycerol + 20 ml 5X TBE + 5 ml ddH₂O) ve 14 µl ddH₂O eklenmiştir. Karışım vortekste iyice karıştırılmış, sonra da kısa süreli santrifüj yapılmıştır. Hazırlanan bu örnekler içerisinde alınan 10 µl örnek, 0.5X TBE solüsyonu içerisinde bulunan ve 0.5X TBE solüsyonu ile hazırlanmış % 0.8'lik agaroz jelle yüklenmiştir. Örneklerin DNA konsantrasyonunu belirlemek için agaroz jellere standart olarak lamda DNA'da (25 ng – 50 ng – 100 ng -200 ng) yüklenmiştir. Agaroz jelle yüklenen bu örnekler 90 voltta 60 dakika koşturulmuştur. Koşturma işleminden sonra Ethidium Bromide ile boyanan agaroz jel, Jel görüntüleme aleti (UV transilluminatör Vilber Lourmat) yardımıyla görüntülenmiştir. Agaroz jelle standart olarak yüklenen Lamda DNA (25 ng – 50 ng – 100 ng -200 ng) örnekleri ile DNA örnekleri karşılaştırılmış DNA'ların konsantrasyonları belirlenmiştir. Elde edilen DNA miktarı ve konsantrasyonuna ait bir resim Şekil 3.2'de verilmiştir.



Şekil 3.2. Otuzbeş Adet Buğday Çeşitinden Elde Edilmiş DNA Konsantrasyonu ve Kalitesine Ait Bir Görüntü. DNA konsantrasyonlarını belirlemede kullanılan Lamda DNA'lar (25ng - 50ng - 100ng - 200 ng) jelin başlangıcında verilmiştir.



Şekil 3.3. Otuzyedi Adet Buğday Çeşitinden Elde Edilen ve PCR Analizlerinde Kullanılmak Üzere Hazırlanan 5ng/ul'ye Ayarlanmış DNA Örnekleri. DNA konsantrasyonlarını belirlemede kullanılan Lamda DNA (50 ng) jelin başlangıcında verilmiştir.

Daha sonra konsantrasyonları belirlenen DNA örnekleri PCR analizlerinde kullanılmak üzere konsantrasyonları 5 ng/μl ve 25 ng/μl olarak hazırlanmıştır. (Şekil 3.3)

3.2.3.Cücelik Genlerinin Analizi

Rht-B1 ve *Rht-D1* genlerinin klonlanması ve bunların DNA dizilimlerinin belirlenmesinden sonra Ellis ve ark.'ları (2002) buğday cücelik genlerinin yabani (uzun tip) ve mutant (cüce tip) allelleri için DNA markörleri geliştirmişlerdir. Her iki gen için Türkiye'de yetiştirilen ekmeklik ve makarnalık buğday çeşit ve genotiplerin bu genlerin hangi allelleri taşıdıklarını belirlemek için Ellis ve ark. (2002) ile Zhang ve ark.'nın (2006) bildirmiş oldukları ve detayları Çizelge 3.3'te verilen DNA markörleri kullanılmıştır.

Çizelge 3.3. Cücelik Genlerini Tanımlamada Kullanılan Primer Adları, DNA Dizilimleri ve Referansları

Markerlar	DNA Dizilimi (5'→3')	Referans
<u>Rht-B1a (Uzun Tip)</u>		
BF	5'- GGTAGGGAGGCGAGAGGCGAG -3'	Ellis ve ark. 2002
WR1	5'- CATCCCCATGGCCATCTCGAGCTG -3'	
<u>Rht-B1b (Kısa Tip)</u>		
BF	5'- GGTAGGGAGGCGAGAGGCGAG -3'	Ellis ve ark. 2002
MR1	5'- CATCCCCATGGCCATCTCGAGCTA -3'	
<u>Rht-D1a (Uzun Tip)</u>		
DF	5'- CGCGCAATTATTGGCCAGAGATAG -3'	Ellis ve ark. 2002
WR2	5'- GGCCATCTCGAGCTGCAC -3'	
<u>Rht-D1b (Kısa Tip)</u>		
DF	5'- CGCGCAATTATTGGCCAGAGATAG -3'	Ellis ve ark. 2002
MR2	5'- CCCCATGGCCATCTCGAGCTGCTA -3'	
<u>Rht-B1a (Uzun Tip)</u>		
NH-BF.2	5'- TCTCCTCCCTCCCCACCCCAAC -3'	Zhang ve ark 2006
WR1.2	5'- CCATGGCCATCTCGAGCTGC -3'	
<u>Rht-B1b (Kısa Tip)</u>		
NH-BF.2	5'- TCTCCTCCCTCCCCACCCCAAC -3'	Zhang ve ark. 2006
MR2	5'- CCCCATGGCCATCTCGAGCTGCTA -3'	

Cücelik DNA markörlerinden *Rht-B1* genini belirlemek için kullanılan Polimeraz Zincir Reaksiyonları (PCR) Zhang ve ark.'na (2006) göre yapılmıştır. Hazırlanan PCR reaksiyon solüsyonunun toplam hacmi 25µl'dır. Bu reaksiyon solüsyonu içerisinde 1X PCR buffer, 0.2 mM dNTPs, 1.5 mM MgCl₂, 0.5 U Hotstar Taq polimarese, 5 pmol DNA başlatım dizilimleri (forward ve reverse primer) ve 50 ng DNA örneği vardır. Reaksiyonlarda ilk önce 95°C'de 5dk denatürasyon ile başlamış ve bir döngü 94°C'de 30 sn denatürasyon, 63°C'de 30 sn bağlanma, 72°C'de 30 sn uzama ile tamamlanmış olup istenen bölgenin çoğaltılması için toplam 38 döngü yapılmıştır. Son döngüde uzama süresi 5 dakikaya çıkartılmıştır.

Rht-D1 genini belirlemek için kullanılan Polimeraz Zincir Reaksiyon (PCR) Ellis ve ark.'na (2002) göre yapılmıştır. Hazırlanan PCR reaksiyon solüsyonunun toplam hacmi 25µl'dır. Bu reaksiyon solüsyonu içerisinde; 1X PCR buffer, 0.4 mM dNTPs, 1.5 mM MgCl₂, 0.5 U Hotstar Taq polimarese, 10 pmol DNA başlatım dizilimleri (forward ve reverse primer) ve 50 ng DNA örneği vardır.

Rht-D1b allelini tanımlamak için kullanılan PCR döngü koşulu; 95°C’de 5dk denatürasyon, 94°C’de 30 sn, 65°C’de 1 dk, 72°C’de 80 sn 7 döngü ve 94°C’de 15 sn, 58°C’de 15 sn, 72°C’de 50 sn son olarak 72°C’de 5dk uzama süresi ile toplam 30 döngü yapılarak tamamlanmıştır. *Rht-D1a* allelini tanımlamak için kullanılan PCR döngü koşulu ise; 95°C’de 5 dk denatürasyon aşaması, 94°C’de 20sn, 58°C’de 30 sn, 72°C’de 10sn ve son olarak 72°C’de 2dk uzama aşamasıyla toplamda 30 döngü yapılarak tamamlanmıştır. Bütün reaksiyonlar Eppendorf marka sıcaklık döngü aletinde (Thermocycle) yapılmıştır. Reaksiyon bittikten sonra, reaksiyon solüsyonu içerisine 5 µl yükleme boyası (6X blue-dye) eklenmiş ve bu örnekten 12 µl solüsyon alınarak 0.5X TBE kullanılarak hazırlanmış olan % 2’lik agaroz jelde, 130-150 voltta 1.5 saat koşulmuş, koşma işlemi bittikten sonra 0.5 µg/ml konsantrasyondaki etidyum bromit ile boyanmış ve jel görüntüleme altında görüntüsü alınarak bilgisayara kaydedilmiştir.

3.2.4. Buğday-Çavdar Translokasyonu

Ekmeklik ve makarnalık buğday çeşit ve genotiplerinde 1BL.1RS veya 1AL.1RS çavdar translokasyonlarının olup olmadığını saptamak için 9 farklı PCR’a dayalı DNA markörü kullanılmış olup bunlar Çizelge 3.4’te verilmiştir.

RIS ve RYE-NOR DNA markörleri Koebner (1995) tarafından geliştirilmiştir. RIS ve RYE-NOR DNA markörlerinde kullanılan polimeraz zincir reaksiyonları (PCR) Koebner’e (1995) göre yapılmıştır. Koebner’e (1995) göre hazırlanan PCR reaksiyon solüsyonunun toplam hacmi 25µl’dır. Bu reaksiyon solüsyonu içerisinde 1X PCR buffer (50 mM KCl, 10 mM Tris-HCL, pH 9.0, %0.1 Triton X-100), 0.2 mM dNTPs, 1.5 mM MgCl₂, 0.5 U Taq polimeraze, 5 pmol DNA primer (forward ve reverse primer) ve 25 ng DNA örneği konulmuştur. Reaksiyon ilk önce 94°C’de 4 dk denatürasyon ile başlamış ve bir döngü 94°C’de 15 sn denatürasyon, 65°C’de 45 sn bağlanma, 72°C’de 45 sn uzama ile tamamlanmış olup istenen bölgenin çoğaltılması için toplam 30 döngü yapılmıştır. Son döngüden sonrada 7 dakika uzama yapılarak reaksiyon durdurulmuştur. Reaksiyon bittikten sonra, reaksiyon solüsyonu içerisine 5 µl yükleme boyası (6X blue-dye; 50 mg bromofenol blue + 25 ml glycerol + 20 ml

5X TBE + 5ml ddH₂O) eklenmiş ve bu örnekten 12 µl solüsyon alınarak 0.5X TBE kullanılarak hazırlanmış olan % 2'lik agaroz jelde, 130-150 voltta 1.5 saat koşulmuş, koşma işlemi bittikten sonra 0.5 µg/ml konsantrasyondaki Ethidium Bromide ile boyanmış ve jel görüntüleme altında görüntüsü alınarak bilgisayara kaydedilmiştir.

Ekmeklik ve makarnalık buğday çeşit ve genotiplerinde 1AL.1RS veya 1BL.1RS çavdar translokasyonlarını saptamak için kullanılan SEC1GENE ve SEC1PRO DNA markörleri Yamamoto ve Mukai (2005), PAW161 DNA markörü Guidet ve ark. (1991), PAWS5/S6 DNA markörü Rogowsky ve ark. (1992) ve RYER3/F3 DNA markörü ise Katto ve ark. (2004) tarafından geliştirilmiştir (Çizelge 3.4). Bu DNA markörlerinin PCR reaksiyonları Weng ve ark.'a (2007) göre yapılmıştır. Hazırlanan PCR reaksiyon solüsyonunun toplam hacmi 25µl'dır. Bu reaksiyon solüsyonu içerisinde; 1X PCR buffer (50 mM KCl, 10 mM Tris-HCL, pH 9.0, % 0.1 Triton X-100), 0.2 mM dNTPs, 2 mM MgCl₂, 0.5 U Taq polimarese, 5 pmol DNA başlatım dizilimleri (forward ve reverse primer) ve 25-50 ng DNA örneği bulunmaktadır.

Reaksiyon ilk önce 95°C'de 3 dk denatürasyon ile başlamış ve bir döngü 94°C'de 45 sn denatürasyon, 60°C'de 60 sn bağlanma, 72°C'de 90 sn uzama ile tamamlanmış olup istenen bölgenin çoğaltılması için toplam 30 döngü yapılmıştır. Son döngüden sonra da 5 dk uzama yapılarak reaksiyon durdurulmuştur. Reaksiyon bittikten sonra, reaksiyon solüsyonu içerisine 5 µl yükleme boyası (6X blue-dye; 50 mg bromofenol blue + 25 ml glycerol+ 20 ml 5X TBE + 5ml ddH₂O) eklenmiş ve bu örnekten 12 µl solüsyon alınarak 0.5X TBE kullanılarak hazırlanmış olan % 2-3'lük agaroz jelde, 100-120 voltta 1.5-3 saat koşulmuştur. Koşma işlemi bittikten sonra jeller 0.5 µg/ml konsantrasyondaki etidyum bromit ile boyanmış ve jel görüntüleme cihazı (UV transilluminatör -Vilber Lourmat) altında görüntüsü alınarak bilgisayara kaydedilmiştir.

Çizelge 3.4. 1AL.1RS ve 1BL.1RS Buğday-Çavdar Translokasyonlarının Belirlenmesinde Kullanılan Primer Adları, DNA Dizimleri ve Referansları

Markerlar	DNA Dizilimi (5'→3')	Referans
RIS-F RIS-R	5'- TAATTTCTGCTTGCTCCATGC -3' 5'- ACGGGGTGCACTGGATTAG -3'	Koebner (1995)
RYE-NOR-F RYE-NOR-R	5'- GCATGTAGCGACTAACTCATC -3' 5'- CCCAGTTTTCCATGTCGC -3'	Koebner (1995)
SCM9-F SCM9-R	5'- TGACAACCCCTTTCCCTCGT -3' 5'- TCATCGACGCTAAGGAGGACCC -3'	Saal ve ark (1999)
PAW161-F PAW161-R	5'-TGAGGGCCCAGACGGCCCTTTTG -3' 5'-TTATCGCAATTACAACCTCAAATTT -3'	Guidet ve ark (1991)
PAWS5/S6-F PAWS5/S6-R	5'-AACGAGGGGTTTCGAGGCC -3' 5'-GAGTGTCAAACCCAACGA -3'	Rogowsky ve ark (1992)
Sec1Gene-F Sec1Gene-R	5'-AACATGAAGACCTTCCTCATC -3' 5'-CGTTACATTGAACACTCCATT -3'	Yamamoto ve Mukai (2005)
Sec1Pro-F Sec1Pro-R	5'-GGATCCAAATTTGCATGCGTA -3' 5'-CAACTCTTGTCGCTAGGGTT -3'	Yamamoto ve Mukai (2005)
o-sec-5'/A o-sec-3'/R	5'-CTATTAGTTCGAAAAGCTTATGA -3' 5'-GCATATGACTCAAATTATTTTTT -3'	Shimizu ve ark. (1997)
Rye R3/F3-F Rye R3/F3-R	5'-GATCGCCTCTTTTGCCAAGA -3' 5'-TCACTGATCACAAGAGCTTG -3'	Katto ve ark (2004)

Çavdarın Sec-1 lokusunu tanımlamak için Shimizu ve ark (1997)'ları PCR'a dayalı farklı DNA markörleri geliştirmiş ve bu DNA markörlerini O-SEC markörleri olarak isimlendirmiştir. Ekmeklik ve makarnalık buğday çeşit ve genotiplerinde 1AL.1RS veya 1BL.1RS çavdar translokasyonlarını belirlemek için bu DNA markörleri de kullanılmıştır. Bu DNA markörünün PCR reaksiyon solüsyonu Weng ve ark.'a (2007) göre hazırlanırken, PCR döngü sayısı ve sıcaklıkları, Shimizu ve ark.'a (1997) göre yapılmıştır. Reaksiyon ilk önce 94°C'de 5 dk denatürasyon ile başlamış ve bir döngü 94°C'de 60 sn denatürasyon, 50°C'de 2 dk bağlanma, 72°C'de 3 dk uzama ile tamamlanmış olup istenen bölgenin çoğaltılması için toplam 30 döngü yapılmıştır. Son döngüden sonrada 5 dk uzama yapılarak reaksiyon durdurulmuştur. Geri kalan tüm işlemler yukarıda ifade edildiği gibi yapılmıştır.

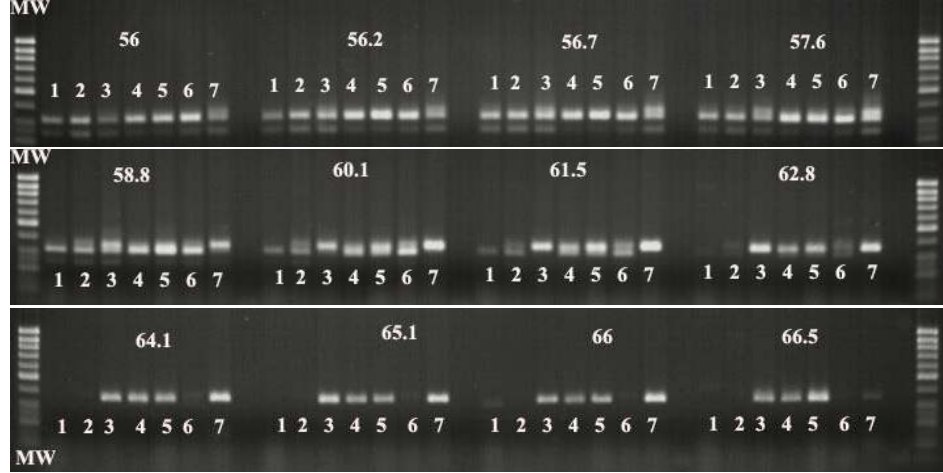
Ekmeklik ve makarnalık buğday çeşit ve genotiplerinde çavdar translokasyon durumu saptandıktan sonra çavdar translokasyonunu taşıyan ekmeklik buğday çeşidinin hangi tip translokasyonu taşıdığını belirlemek için Saal ve ark. (1999) tarafından geliştirilen ve SCM9 isimli DNA markörü kullanılmıştır. PCR reaksiyon solüsyonu içinde, 1X PCR buffer (50 mM KCl, 10 mM Tris-HCL, pH 9.0, %0.1 Triton X-100), 0.2 mM dNTPs, 1.5 mM MgCl₂, 0.5 U Taq polimere, 5 pmol DNA başlatım dizilimleri (forward ve reverse primer) ve 50 ng DNA örneği konmuştur. Reaksiyon ilk önce 94°C’de 2 dk denatürasyon ile başlamış ve bir döngü 94°C’de 60 sn denatürasyon, 60°C’de 60 sn bağlanma, 72°C’de 60 sn uzama ile tamamlanmış olup istenen bölgenin çoğaltılması için toplam 40 döngü yapılmıştır. Son döngüde uzama süresi 5 dakikaya çıkartılmıştır. Reaksiyon bittikten sonra, reaksiyon solüsyonu içerisine 5 µl yükleme boyası (6X blue-dye; 50 mg bromofenol blue + 25 ml glycerol + 20 ml 5X TBE + 5ml ddH₂O) eklenmiş ve bu örnekten % 3’lük agaroz jelde, 130-150 voltta 2 saat koşulmuştur. Koşma işlemi bittikten sonra jeller 0.5 µg/ml konsantrasyondaki etidyum bromit ile boyanmış ve jel görüntüleme cihazı (UV transilluminatör-Vilber Lourmat) altında görüntüsü alınarak bilgisayara kaydedilmiştir.

3.3. Verilerin Değerlendirilmesi

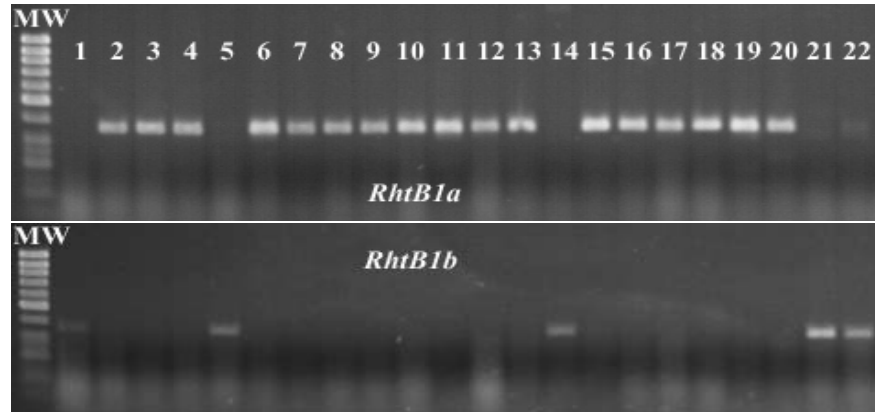
Elde edilen PCR ürünlerin agaroz jeldeki sonuçları var yok olarak değerlendirilmiş ve ekmeklik ve makarnalık buğday çeşit ve genotipleri sınıflandırılmıştır.

4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA**4.1. Cücelik Genleri**

Çalışmada *RhtB1* ve *RhtD1* genlerinin allellik durumlarının belirlenmesi için Ellis ve ark.'nın (2002) ve Zhang ve ark.'nın (2007) önerdiği DNA markörleri kullanılmıştır (Çizelge 3.3). Dr. Endo'dan temin edilen Norin-10 çeşidi ile izogenik hatlar, bu DNA markörlerinin doğruluğunu kontrol etmek için kullanılmıştır (Çizelge 3.2). *Rht-B1* geninin biri yabani (uzun tip), diğeri mutant (cüce tip) olmak üzere iki tip alleli bulunmaktadır. *Rht-B1* geninin bu iki allelini tanımlamak için ilk olarak Ellis ve ark.'nın (2002) önerdiği DNA markörleri kullanılarak kontrol çeşitlerde PCR analizleri yapılmıştır. *Rht-B1a* (uzun tip) allelini tanımlamak için BF-WR1 primer kombinasyonu, *Rht-B1b* (cüce tip) allelini tanımlamak için de BF-MR1 primer kombinasyonu kullanılarak kontrol genotiplerde PCR analizi yapılmıştır. *Rht-B1b* (cüce tip) allelini ve *Rht-B1a* (uzun tip) alleli belirlemek için kontrol genotipler kullanılarak yapılan PCR analizleri sonucunda bu allelleri taşıyan ve taşımayan bütün kontrol genotiplerde spesifik olmayan birçok bant elde edilmiştir. Ellis ve ark.'nın (2002) önerdiği primer kombinasyonları ile yapmış olduğumuz DNA analizlerinde beklenen bantlar elde edilemeyince *Rht-B1* genlerini belirlemek için bu defa Zhang ve ark.'nın (2006) önerdiği primer kombinasyonları kullanılmıştır. *Rht-B1a* alleli için Zhang ve ark.'nın (2006) önerdikleri primer kombinasyonları (NH.BF2-WR1.2) kullanılarak kontrol genotiplerinde Gradient PCR yapılmış ve elde edilen sonuçlar Şekil 4.1'de verilmiştir. Gradient PCR analizindeki amaç farklı sıcaklık derecelerinde kullanılan primer kombinasyonu için en uygun yapışma sıcaklığını belirlemektir. Şekil 4.1'de de görüldüğü gibi *Rht-B1a* allelini tanımlamak için en uygun yapışma sıcaklığının 66°C derece olduğu saptanmıştır. Sonuç olarak, *Rht-B1a* alleleline (uzun tip) sahip genotiplerde 372 bp uzunluğunda bant elde edilirken *Rht-B1b* alleleline (cüce tip) sahip genotiplerde bant elde edilmemiştir (Şekil 4.1). *Rht-B1b* içinde Gradient PCR yapılmış ve bu alleli tanımlamada kullanılacak primer kombinasyonu için en uygun yapışma sıcaklığının 66°C olduğu saptanmıştır. *Rht-B1* genini allellik formlarını bulmak için kontrol çeşitlerinde yapılan DNA analiz sonuçları Çizelge 4.1'de verilmiştir.



Şekil 4.1. *Rht-B1a* (uzun tip) alleli için NH.BF2-WR1.2 Primer Kombinasyonu Kullanılarak Yapılan “Gradient” PCR Sonuçları. MW: 100 bç DNA markörü. 1) *Rht1,Rht2*, 2) *Rht1,rht2*, 3) *rht1,Rht2*, 4) *Chinese Spring*, 5) *Turkey Red*, 6) *Norin 10*, 7) *rht1,rht2*



Şekil 4.2. *Rht-B1a* (uzun tip) Alleli ve *Rht-B1b* (cüce tip) Alleli Belirlenen Bazı Çeşitler. MW: 100 bç DNA markörü. 1) Kızıltan, 2) Kutluk, 3) Kunduru, 4) Gerek, 5) Bağcı 2002, 6) Dağdaş, 7) Ak-702, 8) Yayla, 9) Bolal, 10) Fatasel 185/1, 11) P 8.8, 12) P 8.6, 13) Melez, 14) Kırkpınar 79, 15) Porsuk 2800, 16) 4.11, 17) 4.22, 18) Sertak, 19) Yektay, 20) Gün 91, 21) Yakar, 22) Atay-85

Çizelge 4.1. *RhtB1* ve *RhtD1* Genlerinin Allelik Durumlarının Tanımlanmasında Kullanılan Kontrol Genotiplerle Yapılan PCR Analiz Sonuçları

Kayıt numarası	Genotipler	<i>Rht-B1</i>		<i>Rht-D1</i>	
		<i>Rht-Ba</i>	<i>Rht-B1b</i>	<i>Rht-D1a</i>	<i>Rht-D1b</i>
KT020-129	<i>Rht1,Rht2</i>	-	+	*	+
KT020-130	<i>Rht1,rht2</i>	-	+	*	-
KT020-131	<i>rht1,Rht2</i>	+	-	*	+
KT020-132	<i>rht1,rht2</i>	+	-	*	-
KT020-003	Chinese Spring	+	-	*	-
KT020-005	Turkey Red	+	-	*	-
KT020-091	Norin-10	-	+	*	+
Bant Uzunluğu		372	380	-	264

*: Analiz edilmedi

Rht-D1 geni de *Rht-B1* geni gibi yabani ve mutant olmak üzere iki tip allele sahiptir. *Rht-D1* geninin iki allelini tanımlamak için Ellis ve ark.'nın (2002) geliştirdikleri DNA markörleri kullanılmıştır. (Çizelge 3.3) *Rht-D1a* (uzun tip) allelini tanımlamak için DF-WR2 primeri, *Rht-D1b* (cüce tip) allelini tanımlamak için de DF-MR2 primeri kullanılarak kontrol genotiplerinde yapılan PCR analiz sonuçları Çizelge 4.1'de, PCR sonuçlarının jel görüntüsü ise Şekil 4.3'de verilmiştir. DF2-MR2 primeri ile kontrol genotiplerde yapılan PCR analizleri sonucunda *Rht-D1b* (cüce tip) allelini taşıyan genotiplerde 264 bp uzunluğunda bant elde edilirken *Rht-D1b* allelini taşımayan genotiplerde ise PCR ürünü elde edilmemiştir. *Rht-D1a* allelini belirlemek için kullanılan DF2-WR2 primeri ile yapılan analiz sonucunda hiçbir genotipte PCR ürünü elde edilmemiştir. DF2-WR2 primeri ile farklı PCR koşullarında yapılan diğer analizlerde de herhangi bir PCR ürünü elde edilmemiştir. (Şekil 4.4)

Araştırmada incelenen 102 adet ekmeklik ve 26 adet makarnalık buğday çeşidinde, Zhang ve ark.'nın (2006) önerdiği primer çifti kullanılarak *Rht-B1* geninin allellik durumları belirlenmiş ve elde edilen sonuçlar Çizelge 4.2 ile Çizelge 4.3'te, elde edilen PCR sonucuna ait bir resim ise Şekil 4.2'de verilmiştir. 40 adet ekmeklik ve 10 adet makarnalık buğday çeşidinin *Rht-B1b* (cüce tip) alleline sahip olduğu saptanmıştır. 62 adet ekmeklik buğday çeşidi ve 16 adet makarnalık buğday çeşidinin ise *Rht-B1a* (uzun tip) allelini taşıdığı tespit edilmiştir. Bu çalışmada incelenen ekmeklik buğday çeşit ve genotiplerinin %61'inin *Rht-B1a* allelini taşıdığı, %39'inin ise *Rht-B1b* allelini taşıdığı tespit edilmiştir.



Şekil 4.3. 32 Ekmeklik Buğday Çeşidinde *Rht-D1b* (cüce tip) Allelini Belirlemek İçin Yapılan PCR Analiz Sonucu. MW: 100 bç DNA markörü. 1) Ceyhan 99 2) Ak-702, 3) Yayla-305, 4) Sertak-52, 5) Yektay-406, 6) Kırac 66, 7) Porsuk 2800, 8) Gerek 79, 9) Kırkpınar 79, 10) Atay-85, 11) Kutluk 94, 12) Kaşifbey 95, 13) Palandöken 97, 14) Süzen 97, 15) Kınacı 97, 16) Mızrak, 17) Pehlivan, 18) Türkmen, 19) Göksu 99, 20) Pandas, 21) Karahan 99, 22) Saraybosna, 23) Alparslan, 24) sönmez 2001, 25) Soyer 02, 26) Bağcı 2002, 27) Konya 2002, 28) Uzunyayla, 29) Harmankaya 99, 30) Haymana 79, 31) Milena, 32) Bayraktar 2000



Şekil 4.4. 32 Ekmeklik Buğday Çeşidinde *Rht-D1a* (uzun tip) Allelini Belirlemek İçin Yapılan PCR Analiz Sonucu. MW: 100 bç DNA markörü. 1) Ceyhan 99 2) Ak-702, 3) Yayla-305, 4) Sertak-52, 5) Yektay-406, 6) Kırac 66, 7) Porsuk 2800, 8) Gerek 79, 9) Kırkpınar 79, 10) Atay-85, 11) Kutluk 94, 12) Kaşifbey 95, 13) Palandöken 97, 14) Süzen 97, 15) Kınacı 97, 16) Mızrak, 17) Pehlivan, 18) Türkmen, 19) Göksu 99, 20) Pandas, 21) Karahan 99, 22) Saraybosna, 23) Alparslan, 24) sönmez 2001, 25) Soyer 02, 26) Bağcı 2002, 27) Konya 2002, 28) Uzunyayla, 29) Harmankaya 99, 30) Haymana 79, 31) Milena, 32) Bayraktar 2000

Makarnalık buğday çeşit ve genotiplerinde ise incelenen makarnalık çeşitlerin %61'inin *Rht-B1a* allelini taşıdığı, %39'unun ise *Rht-B1b* allelini taşıdığı tespit edilmiştir. Genel olarak değerlendirildiğinde, araştırmada kullanılan 128 adet ekmeklik ve makarnalık buğday çeşidinin %39'u *Rht-B1b* cüce alleli taşırken %61'i *Rht-B1a* uzun alleli taşıdığı bulunmuştur.

Araştırmada incelenen 92 adet ekmeklik ve 26 adet makarnalık buğday çeşidinde, Ellis ve ark.'nın (2002) önerdiği primer çifti kullanılarak *Rht-D1* geninin allellik durumları belirlenmeye çalışılmış ve elde edilen sonuçlar Çizelge 4.2 ve Çizelge 4.3'te verilmiştir. Yapılan DNA analizi sonucunda, 4 adet buğday çeşit ve genotipinin *Rht-D1b* cücelik alleleline sahip olduğu saptanmıştır. Araştırmada incelenen 92 adet ekmeklik buğday çeşidinden %4.3'ünün *Rht-D1b* cücelik allelini taşıdığı saptanmıştır.

Yang ve Liu (2006) Çin orjinli 421 buğday çeşidinde aynı DNA markörlerini kullanarak yapmış oldukları çalışmada, araştırmada kullandıkları buğday çeşit ve genotiplerinin % 43.5'nin *Rht-D1* geninin *Rht-D1b* allelini taşıdığını bildirmişlerdir. Yine aynı DNA markörlerini kullanarak Zhang ve ark. (2006), Çinde yetiştirilen 220 buğday genotipinde *Rht-B1b*, ve *Rht-D1b* genlerinin dağılımını incelemişlerdir. Yapmış oldukları çalışmada *Rht-B1b* geninin %24.5 ve *Rht-D1b* geninin ise % 45.5 oranında bulunduğunu rapor etmişlerdir. Buna ilave olarak, özellikle 1990 yılından sonra tescil ettirilen çeşitlerde *Rht-B1b* ile *Rht-D1b* genlerinin frekansının arttığını ve bu iki genin Çin'de buğday ıslahında başarı ile kullanıldığı sonucuna varmışlardır

Ellis ve ark. (2002), *Rht-B1* ve *Rht-D1* genlerini belirlemek için geliştirdikleri DNA markörleri ile analiz ettikleri 19 adet buğday çeşidinin bitki boylarında da ölçüm yapmış ve bu iki sonucu ilişkilendirmişlerdir. Buna göre *Rht-B1b* ve *Rht-D1b* mutant (cüce tip) allellerinin her ikisinin birlikte bulundukları durum ile bitki boyundaki kısalma arasında istatistiki açıdan önemli bir ilişki olduğunu saptamışlardır. Bununla birlikte *Rht-D1b* allelinin bitki boyudaki kısaltmaya *Rht-B1b* allelinden daha fazla etki ettiğini belirlemişlerdir. Ayrıca *Rht-B1* ve *Rht-D1* genlerini belirlemek için geliştirmiş oldukları DNA markörlerinin anaç seçiminde kolaylık sağlayacağını bildirmişlerdir.

Çizelge 4.2. Araştırmada Kullanılan Ekmeklik ve Makarnalık Buğday Çeşitlerinde *Rht-B1* ve *Rht-D1* Genlerinin Allellik Durumları

Çeşit Adı	<i>Rht-B1</i>		<i>Rht-D1</i>
	<i>Rht-B1a</i>	<i>Rht-B1b</i>	<i>Rht-D1b</i>
<u>Ekmeklik Çeşitler</u>			
Ak-702	+	-	-
Yayla-305	+	-	-
Sertak-52	+	-	-
Sivas-111/33	+	-	-
Melez-13	+	-	-
4-11	+	-	-
P-8.6	+	-	-
4-22	+	-	-
Yektay-406	+	-	-
Bezostaja 1	+	-	-
Kıraç 66	+	-	-
Bolal-2973	+	-	-
Cumhuriyet 75	+	-	Analiz edilmedi
Porsuk 2800	+	-	-
Gerek 79	+	-	-
Kırkpınar 79	-	+	-
Atay-85	-	+	-
Çukurova-86	-	+	-
Kate A-1	+	-	-
Genç-88	-	+	Analiz edilmedi
Doğu-88	-	+	-
Gün 91	+	-	Analiz edilmedi
Seri 82	-	+	-
Doğankent 1	-	+	-
Dağdaş 94	+	-	-
Kutluk 94	+	-	-
Kaşifbey 95	-	+	-
Sultan 95	-	+	-
Kırgız 95	+	-	Analiz edilmedi
Seyhan 95	-	+	-
İkizce 96	+	-	-
Palandöken 97	+	-	-
Kınacı 97	-	+	-
Süzen 97	+	-	-
Gelibolu	-	+	Analiz edilmedi
Aytın 98	-	+	-
Yıldız 98	+	-	-
Mızrak	+	-	-
Pehlivan	+	-	-
Türkmen	+	-	-

Var (+), Yok (-)

Çizelge 4.2'nin devamı

Çeşit Adı	<i>Rht-B1</i>		<i>Rht-D1</i>
	<i>Rht-B1a</i>	<i>Rht-B1b</i>	<i>Rht-D1b</i>
<u>Ekmeklik Çeşitler</u>			
Gönen 98	-	+	<i>Analiz edilmedi</i>
Flamura 85	-	+	-
Göksu 99	-	+	-
Karahan 99	+	-	-
Yakar 99	-	+	-
Golia	-	+	-
Genç 99	-	+	<i>Analiz edilmedi</i>
Adana 99	-	+	-
Ceyhan 99	-	+	-
Bayraktar 2000	+	-	-
Demir 2000	+	-	-
Çetinel 2000	-	+	-
Altay 2000	+	-	-
Aksel 2000	-	+	-
Balattlia	-	+	<i>Analiz edilmedi</i>
Tahirova 2000	+	-	<i>Analiz edilmedi</i>
Nurkent	-	+	<i>Analiz edilmedi</i>
İzgi 2001	+	-	-
Pandas	+	-	+
Sagittario	-	+	-
Saraybosna	-	+	-
Nenehatun	+	-	-
Alparslan	+	-	-
Sönmez 2001	+	-	-
Zincirci 2002	+	-	-
Yüreğir 89	-	+	-
Soyer 02	+	-	-
Bağcı 2002	-	+	-
Konya 2002	-	+	-
Dariel	-	+	-
Karatoprak	+	-	-
Osmaniyem	-	+	-
P 8.8	+	-	-
Aşure	+	-	-
Topbaş	+	-	-
Tadora	-	+	-
Sirena	+	-	+
Saray	+	-	-
Luzenouka	+	-	+
Krasunya	+	-	+
Odesskaya 267	+	-	-

Var (+), Yok (-)

Çizelge 4.2'nin devamı

Çeşit Adı	<i>Rht-B1</i>		<i>Rht-D1</i>
	<i>Rht-B1a</i>	<i>Rht-B1b</i>	<i>Rht-D1b</i>
<u>Ekmeklik Çeşitler</u>			
Nikania	-	+	-
Uzunyayla	+	-	-
Harmankaya 99	+	-	-
Haymana 79	-	+	-
Milena	+	-	-
Menemen	+	-	-
Mile	+	-	-
Sarı Buğday 63886	+	-	-
Koca Buğday	-	+	-
Kırmızı Başak	-	+	-
İskenderiye	+	-	+
Enola	-	+	-
Sadova	+	-	-
Sana	-	+	-
Arpatan	-	+	-
Akçabuğday	+	-	-
Kırık	+	-	-
Conkesme	+	-	-
Tir	+	-	-
İngiliz Buğdayı	+	-	-
Akbuğday 63897	+	-	-

Var (+), Yok (-)

Yeşil devrimle cücelik genlerinin ticari çeşitlere aktarılması sonucunda gözlenen verim artışından sonra bu cücelik genlerini taşıyan buğday çeşitleri dünyaya yayılmış olup günümüzde de buğday ıslah programlarında yaygın olarak kullanılmaktadır. Ellis ve ark.'nın (2002) cücelik genlerinin her iki mutant (kısa boylu) *Rht-B1b* ve *Rht-D1b* ile her iki normal (uzun boylu) *Rht-B1a* ve *Rht-D1a* allelleri tanımlayacak markörleri geliştirmesi bu genleri taşıyan buğdayların seçiminde kolaylık sağlamakta ve bu genlerin Marköre Dayalı Seleksiyon ıslahı ile istenilen buğday çeşitlerine kısa yoldan aktarılmasını sağlamaktadır. Bugüne kadar birçok cücelik geni tanımlanmış ve bunların bitki boyundaki kısalmaya ve verim artışına etkileri incelenmiştir. Önceki çalışmalar özellikle bu iki mutant genin verimi dolaylı yoldan arttırabildiğini göstermiştir (Sally ve ark., 2007). *Rht-B1* ve *Rht-D1* genleri bitki boyunda benzer etkilere sahip olmasına rağmen *Rht2* geninin *Rht1*'den

Çizelge 4.3. Araştırmada Kullanılan Makarnalık Buğday Çeşitlerinde *Rht-B1* ve *Rht-D1* Genlerinin Allellik Durumları

Çeşit Adı	<i>Rht-B1</i>		<i>Rht-D1</i>
	<i>Rht-B1a</i>	<i>Rht-B1b</i>	
Makarnalık Çeşitler			
Fatasel 185/1	+	-	<i>D genomu yok</i>
Kunduru 1149	+	-	<i>D genomu yok</i>
Çakmak 79	-	+	<i>D genomu yok</i>
Gökgöl 79	+	-	<i>D genomu yok</i>
Kızıltan 91	-	+	<i>D genomu yok</i>
Altıntaş 95	+	-	<i>D genomu yok</i>
Harran 95	-	+	<i>D genomu yok</i>
Selçuklu 97	-	+	<i>D genomu yok</i>
Yılmaz 98	-	+	<i>D genomu yok</i>
Sarıçanak	-	+	<i>D genomu yok</i>
Ç-1252	-	+	<i>D genomu yok</i>
Yelken 2000	-	+	<i>D genomu yok</i>
Meram-2002	-	+	<i>D genomu yok</i>
Üveyik	+	-	<i>D genomu yok</i>
Sarı Bursa	+	-	<i>D genomu yok</i>
Aşure Buğdayı	+	-	<i>D genomu yok</i>
Durnadili	+	-	<i>D genomu yok</i>
SarıBuğday63466	+	-	<i>D genomu yok</i>
Akbuğday 63445	+	-	<i>D genomu yok</i>
Vatan	-	+	<i>D genomu yok</i>
Beyaziye	+	-	<i>D genomu yok</i>
Sorgül	+	-	<i>D genomu yok</i>
Menceki	+	-	<i>D genomu yok</i>
Karakılçık	+	-	<i>D genomu yok</i>
Bağacak	+	-	<i>D genomu yok</i>
Zenit	+	-	<i>D genomu yok</i>

Var (+), Yok (-)

daha kuvvetli bir etkiye sahip olduğu Allan (1970) ve Börner ve ark. (1993) tarafından bildirilmiştir. Bu çalışma sonucunda ülkemizde yetiştirilen ekmeklik ve makarnalık buğday çeşitlerinin durumu ortaya konulmuş ve özellikle bu cücelik allellerinin amaca göre buğday ıslahında kullanılmadığı sonucuna varılmıştır. Özellikle, Yang ve Liu (2006)'nın Çin'de yapmış olduğu çalışmalarda bu iki mutant genin buğday ıslahında yoğun olarak kullanılmaya başlandığını, özellikle 1990 yıllardan sonra bu durumun daha belirgin olduğunu bildirmelerine karşı ne yazık ki ülkemizde durumun böyle olmadığı yapılan bu çalışma ile anlaşılmıştır.

4.2. 1AL.1RS ve 1BL.1RS Buğday -Çavdar Translokasyonları

Bu çalışmada 1R kromozomunun kısa koluna spesifik dokuz adet çavdar primeri, translokasyon tipi bilinen 10 adet buğday genotipi ve 1AL.1RS ve 1BL.1RS translokasyonlarını taşımayan iki adet buğday genotipi kontrol olarak kullanılmıştır (Çizelge 3.2). Önceki çalışmalardan seçilen dokuz 1RS çavdar spesifik primerlerinin, 1AL.1RS ve 1BL.1RS buğday-çavdar translokasyonlarını ayırt etmede kullanılıp kullanılmayacağı kontrol çeşitlerinde PCR analizleri ile test edilmiş ve elde edilen sonuçlar Çizelge 4.4'te verilmiştir.

RYE-NOR primeri ile yapılan PCR çalışmasında 1AL.1RS ve 1BL.1RS buğday-çavdar translokasyonlarını taşıyan genotiplerde 3 farklı bant elde edilmiş olup bant uzunlukları 414 bp, 650 bp ve 780 bp olarak hesaplanmıştır (Şekil 4.5).

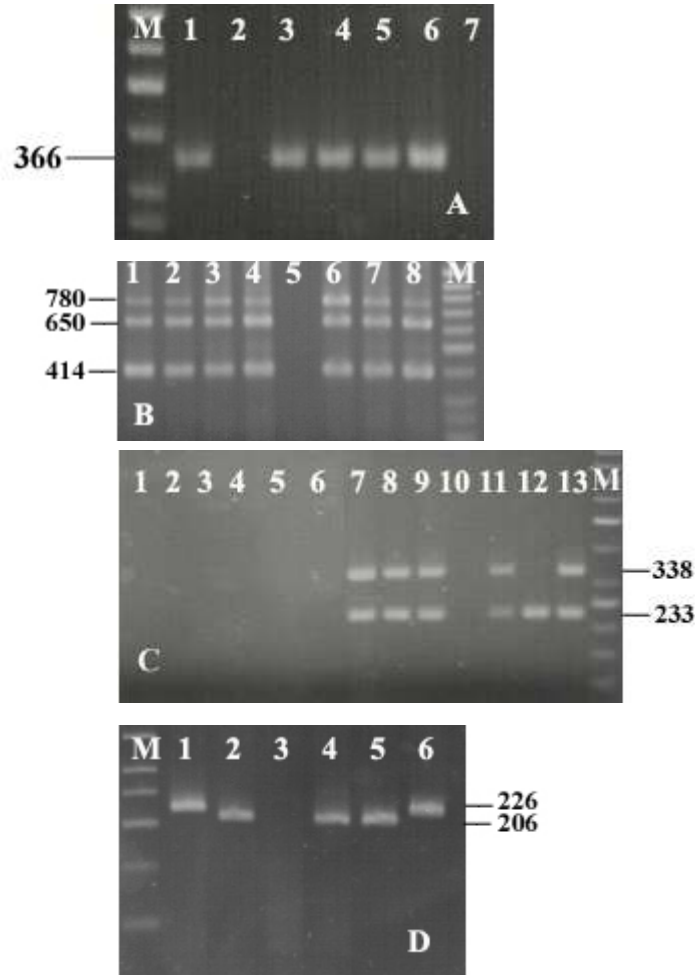
RIS, PAW161, SEC1GENE, SEC1PRO ve RYE R3/F3 primerleri ile yapılan PCR analizlerinde ise kontrol genotiplerde sadece tek bant elde edilmiştir (Şekil 4.5, Çizelge 4.4). PCR analizleri sonucu elde edilen bant uzunlukları yaklaşık olarak RIS primeri için 117 bp, PAW161 primeri için 366 bp, SEC1GENE primeri için 1216 bp, SEC1PRO primeri için 1032 bp ve RYER3/F3 primeri için 1451 bp olarak hesaplanmıştır. 1RS çavdar kromozom parçası taşımayan buğday genotiplerde ise herhangi bir PCR ürünü elde edilmemiştir (Şekil 4.5, Çizelge 4.4).

SCM9 primer çifti ile yapılan PCR analizlerde 1AL.1RS ve 1BL.1RS buğday-çavdar translokasyonlarını taşıyan genotiplerde iki farklı PCR ürünü elde edilmiştir. 1BL.1RS translokasyonunu taşıyan genotiplerde PCR ürününün uzunluğu 206 bp olurken, 1AL.1RS translokasyonunu taşıyan genotiplerde ise PCR ürününün uzunluğu 226 bp olmuştur (Şekil 4.5). Ancak 1BL.1RS translokasyonuna sahip olduğu bilinen KS80H4200 genotipinde PCR ürünü olarak 226 bp uzunluğunda bant elde edilmiştir. Translokasyon taşımayan genotiplerde bant elde edilmemiştir (Şekil 4.5). Benzer sonuçları Weng ve ark. (2007) ile Schegel ve Korzun (1997)'da yapmış oldukları çalışmalarda rapor etmişlerdir. Ayrıca, Schegel ve Korzun (1997) yapmış oldukları çalışmada 1RS kromozomunun orijinin "Pektus" çavdar çeşidi olduğunu ve bunun da Almanya'da meydana geldiğini bildirmişlerdir. Bunun dışında, buğday ıslahında fazla olarak kullanılmayan fakat Japon çavdar

genotipi “Salmon” kullanılarak geliştirilen 1BL.1RS buğday-çavdar translokasyonu da bulunmaktadır. Araştırmada kullanılan KS80H4200 buğday-çavdar translokasyon hattı bu çavdar genotipinin 1RS kromozomunu taşımaktadır. Bundan dolayı iki farklı orijinli 1BL.1RS buğday-çavdar translokasyonundan bu bölge için geliştirilmiş DNA markörleri kullanılarak yapılan PCR analizlerinde farklı sonuçlar elde etmek mümkündür. Örneğin, Graybosh ve ark. (1999) farklı orijinli 1AL.1RS buğday-çavdar translokasyonlarını SSD-PAGE ve DNA moleküler markörleriyle araştırmış ve ikisinin birbirinden farklı olduğunu bildirmiştir.

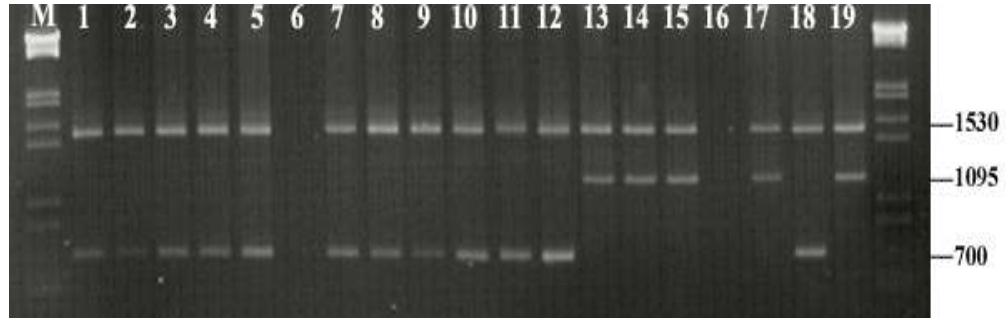
PAW S5/S6 primerları ile yapılan PCR analizlerinde 1AL.1RS buğday-çavdar translokasyonu taşıyan genotiplerde 233 bç ve 338 bç uzunluğunda 2 adet bant elde edilmiştir (Şekil 4.5). Ancak, 1AL.1RS buğday-çavdar translokasyonu taşıyan N96L9970 genotipinde ise 233 bç uzunluğunda tek bant elde edilmiştir (Şekil 4.5). 1BL.1RS buğday-çavdar translokasyonu taşıyan genotiplerde ve translokasyon taşımayan genotiplerde herhangi bir PCR ürünü elde edilmemiştir (Şekil 4.5).

PAW S5/S6 primerları ile yapılan PCR analizleri sonucunda 1AL.1RS translokasyonuna sahip genotiplerden (N96L9970 hariç) iki bant elde edilmiştir. Weng ve ark. (2007)’ı aynı primerları kullanarak ve aynı PCR şartları ile yapmış oldukları PCR analizleri sonucunda 4-5 bant elde etmişlerdir. Bu çalışmada elde edilen PCR ürününün iki bant ile Weng ve ark.’nın (2007) PCR ürünü sonucu elde ettiği 4-5 banttan ikisinin benzerlik gösterdiği saptanmıştır. Bu iki farklı sonuç, bu DNA markörüne göre yapılacak PCR analiz sonuçlarının PCR analizin yapıldığı laboratuvara göre değişebileceği fakat her iki koşulda da değişmeyen bu iki bantın buğday-çavdar translokasyonlarını ayırt etmede kullanılabileceğini göstermektedir. Buna ilave olarak, Weng ve ark.’ı (2007) yapmış oldukları çalışmada İnsave çavdar çeşidinin 1RS kromozom parçası için spesifik 233 bç bant gözlemişlerdir. İnsave ve GRS1201 çeşitleri 1AL.1RS translokasyonunun kaynağı olarak rapor edilmiştir. (Graybosch ve ark., 2001). Graybosh ve ark. (1999) çok açık bir şekilde bu iki farklı orijinden gelen 1AL.1RS buğday-çavdar translokasyonları SSD-PAGE ve DNA moleküler markörleriyle araştırmış ve ikisinin birbirinden farklı olduğunu bildirmiştir.



Şekil 4.5. 1AL.1RS ve 1BL.1RS Buğday-çavdar Translokasyonlarında Çavdarın 1RS Kromozomu İçin Spesifik Bazı DNA Markörlerinin Sonuçları. **A) PAW161**, 1: Amigo, 2: Chinese Spring, 3: Tam 110, 4: Fanin, 5: Kavkaz, 6: Freedom, 7: Tam 105. **B) RYE-NOR**, 1: Amigo, 2: Tam 110, 3: Tam 303, 4: Fanin, 5: Chinese Spring, 6: Kavkaz, 7: Freedoom, 8: Veery "S". **C) PAWS5/S6**, 1: Kavkaz, 2: Freedom, 3: KS91HWGRC14, 4: Veery "S", 5: KS80H4200, 6: Chinese Spring, 7: Amigo, 8: Tam 303, 9: Tam 110, 10: Tam 105, 11: Fanin, 12: N96L9970, 13: Amigo. **D) SCM9-F**, 1: Amigo, 2: Freedom, 3: Chinese Spring, 4: Veery "S", 5: Kavkaz, 6: Tam 303. M – DNA marker.

Çavdarda bulunan secalin genleri çavdarın 1R kromozomunun kısa kolundaki SEC-1 lokusuna yerleşmiş ve Shimizu ve ark. (1997) bu lokus için moleküler markörler geliştirmişlerdir. O-SEC-A / O-SEC-R primer çifti ile yapılan PCR analizlerinde 3 farklı bant elde edilmiştir. 1AL.1RS buğday-çavdar translokasyonunu taşıyan genotiplerde 1530 bp ve 1095 bp'lik 2 bant elde edilirken 1BL.1RS buğday-çavdar translokasyonunu taşıyan genotiplerde 1530 bp ve 700 bp'lik 2 bant elde edilmiştir. Translokasyon taşımayan genotiplerde bant elde edilmezken 1530 bp uzunluğundaki bandın hem 1AL.1RS translokasyonunu taşıyan genotiplerde hem de 1BL.1RS translokasyonunu taşıyan genotiplerde ortak olduğu saptanmıştır (Şekil 4.6). Ayrıca 1AL.1RS translokasyonunu taşıyan genotiplerde 1095 bp uzunluğunda, 1BL.1RS translokasyonunu taşıyan genotiplerde ise 700 bp uzunluğunda ikinci bir bant gözlenmiştir. Ancak 1AL.1RS translokasyonunu taşıdığı bilinen N96L9970 genotipinde 1BL.1RS translokasyonu için gözlenen 700 bp'lik bant elde edilmiştir (Şekil 4.6). Özellikle bu DNA markörü tek PCR reaksiyonunda hem 1BL.1RS hem de 1AL.1RS buğday-çavdar translokasyonunu tanımlamada kolaylıkla kullanılabilir.



Şekil 4.6. 1AL.1RS ve 1BL.1RS Buğday-çavdar Translokasyonlarında O-SEC-A / O-SEC-R DNA Markörü Kullanılarak Yapılan PCR Analiz Sonuçları. M: DNA markör, Genotipler: 1: Kavkaz, 2: Freedom, 3: KS91HWGRC14, 4:Veery "S", 5: KS80H4200, 6: Chinese Spring, 7: Kavkaz, 8: Freedom, 9: KS91HWGRC14, 10: Veery "S", 11: KS80H4200, 12: Kavkaz, 13: Amigo, 14: Tam 303, 15: Fanin, 16: Tam 105, 17: Tam 110, 18: N96L9970, 19: Tam 110.

Çizelge 4.4. 1AL.1BL ve 1BL.1RS Buğday-Çavdar Translokasyonlarını Tanımlamada Kullanılan Çavdarın 1RS Kromozomu için Spesifik DNA Markörleri, Kullanılan Translokasyonları İsmi ve Analiz Sonuçları

1RS Kromozomu İçin Spesifik Markörler																
Buğday-Çavdar Translokasyonu	Çavdar Kaynağı	SCM9-F		RIS	RYE-NOR	PAW 161	PAW S5/S6		SEC1 PRO	SEC1 GENE	O-SEC5'-A/O-SEC3'-R			RYE R3/F3		
<u>1AL.1RS</u> Amigo Fanin Tam 303 Tam 110 N96L9970	Insave	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+
	Amigo	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	Amigo	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	Amigo	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	GRS1201	-	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+	+	+
<u>1BL.1RS</u> Freedom Kavkaz Petkus Kavkaz Salmon Kavkaz	Kavkaz	+	-	+	+	+	-	+	+	+	+	+	-	+	+	+
	Petkus	+	-	+	+	+	-	+	+	+	+	+	-	+	+	+
	Kavkaz	+	-	+	+	+	-	+	+	+	+	+	-	+	+	+
	Salmon	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	-	+	+	+
	Kavkaz	+	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	-	+	+	+
<u>Non-1RS wheat</u> Chinese Spring Tam 104	Non-1RS	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Non-1RS	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Spesifik Bant (bp)		206	226	117	366	233	338	1032	1216	1530	1095	700				1451

1AL.1RS ve 1BL.1RS buğday-çavdar translokasyonlarını belirlemek için kullanılan çavdarın 1RS kromozomuna özgü dokuz DNA markörünün, bu buğday-çavdar translokasyonlarını belirlemede kullanılabilirliği tespit edilmiştir. Yapılan bu çalışma sonucunda kullanılan bütün primerlerin buğday-çavdar translokasyonları için spesifik bantlar oluşturdıkları saptanmıştır. Buna ilave olarak üç DNA markörünün (SCM9, PAW S5/S6, O-SEC-A/R) ise 1AL.1RS ve 1BL.1RS translokasyonlarını ayrı ayrı tanımlayacak PCR ürünü verdiği belirlenmiştir. Türkiye’de yetiştirilen ekmeklik ve makarnalık buğday çeşit ve genotiplerinin 1AL.1RS ve 1BL.1RS translokasyonlarını belirlemek için toplam 111 adet ekmeklik ve 26 adet makarnalık buğday çeşidinde yukarıdaki sonuçlara göre seçilen 6 adet çavdar spesifik primeri kullanılmıştır. PCR analizlerinden elde edilen sonuçlar Çizelge 4.5’te ve Şekil 4.7’de verilmiştir. Yapılan analizler sonucunda incelenen buğday çeşit ve genotiplerinden biri yabancı orijinli beş adet ekmeklik buğday çeşidinin buğday-çavdar translokasyonunu taşıdığı saptanmıştır (Çizelge 4.5). Aynı zamanda Türkiye’de tescil ettirilmiş dört ekmeklik buğday çeşidinin (Seri-82, Yıldız-98, Tahirova2000 ve Osmaniye) 1BL.1RS çavdar translokasyonuna sahip olduğu belirlenmiştir. Bu sonuca göre, Türkiye’de 1931 yılından 2006 yılına kadar tescil edilmiş olan buğday çeşitlerinden %2.9’unun buğday-çavdar translokasyonlarını taşıdığı belirlenmiştir.



Şekil 4.7. 1AL.1RS ve 1BL.1RS Buğday-Çavdar Translokasyonlarında RYE-NOR DNA Markörü Kullanılarak Yapılan PCR Analiz Sonuçları. MW: 100 bç DNA markörü. 1) Seri-82, 2) Ak-702, 3) Yayla-305, 4) Sertak-52, 5) Yektay-406, 6) Kırac 66, 7) Porsuk 2800, 8) Gerek 79, 9) Kırkpınar 79, 10) Atay-85, 11) Kutluk 94, 12) Kaşifbey 95, 13) Palandöken 97, 14) Süzen 97, 15) Kınacı 97, 16) Osmaniye, 17) Pehlivan, 18) Türkmen, 19) Göksu 99, 20) Pandas, 21) Karahan 99, 22) Saraybosna, 23) Alparslan, 24) Sönmez 2001, 25) Soyer 02, 26) Bağcı 2002, 27) Konya 2002, 28) Uzunyayla, 29) Harmankaya 99, 30) Haymana 79, 31) Milena, 32) Yıldız-98

Çizelge 4.5. 1AL.1RS ve 1BL.1RS Buğday-çavdar Translokasyonunun Türkiye’de Yetiştirilen Ekmeklik ve Makarnalık Buğday Çeşitlerinde Durumu

Çeşitler	1AL.1RS	1BL.1RS	Çeşitler	1AL.1RS	1BL.1RS
<u>EkmeklikÇeşitler</u>			<u>EkmeklikÇeşitler</u>		
Ak-702	-	-	Haymana 79	-	-
Yayla-305	-	-	Flamura 85	-	-
Sertak-52	-	-	Göksu 99	-	-
Sivas-111/33	-	-	Karahan 99	-	-
Melez-13	-	-	Yakar 99	-	-
4-11	-	-	Golia	-	-
P-8.6	-	-	Genç 99	-	-
4-22	-	-	Adana 99	-	-
Yektay-406	-	-	Ceyhan 99	-	-
Bezostaja 1	-	-	Bayraktar 2000	-	-
Kıraç 66	-	-	Demir 2000	-	-
Bolal-2973	-	-	Çetinel 2000	-	-
Orso	-	-	Altay 2000	-	-
Cumhuriyet 75	-	-	Aksel 2000	-	-
Porsuk 2800	-	-	Balattlia	-	-
Gerek 79	-	-	Tahirova 2000	+	+
Kırkpınar 79	-	-	Nurkent	-	-
Momtchil	-	-	İzgi 2001	-	-
İzmir-85	-	-	Pandas	-	-
Atay-85	-	-	Sagittario	-	-
Çukurova-86	-	-	Saraybosna	-	-
Kate A-1	-	-	Nenehatun	-	-
Genç-88	-	-	Alparslan	-	-
Doğu-88	-	-	Sönmez 2001	-	-
Gün 91	-	-	Zincirci 2002	-	-
Seri 82	+	+	Yüreğir 89	-	-
Doğankent 1	-	-	Soyer 02	-	-
Dağdaş 94	-	-	Bağcı 2002	-	-
Kutluk 94	-	-	Konya 2002	-	-
Kaşifbey 95	-	-	Dariel	-	-
Sultan 95	-	-	Ahmetağa	-	-
Kırgız 95	-	-	Tosunbey	-	-
Seyhan 95	-	-	Ekiz	-	-
İkizce 96	-	-	Gelibolu	-	-
Palandöken 97	-	-	Karatoprak	-	-
Kınacı 97	-	-	Osmaniyem	+	+
Süzen 97	-	-	P 8.8	-	-
Bandırma 97	-	-	Aşure	-	-
Karacadağ 98	-	-	Topbaş	-	-
Ziyabey 98	-	-	Tadora	-	-
Aytın 98	-	-	Sirena	-	-

Var (+), Yok (-)

Çizelge 4.5'in devamı

Çeşit Adı	<i>IAL.1RS</i>	<i>IBL.1RS</i>	Çeşit Adı	<i>IAL.1RS</i>	<i>IBL.1RS</i>
<u>Ekmeklik buğday</u>					
Yıldız 98	+	+	Saray	-	-
Mızrak	-	-	Luzenouka	-	-
Pehlivan	-	-	Krasunya	-	-
Türkmen	-	-	Odesskaya 267	-	-
Gönen 98	-	-	Nikania	-	-
Uzunyayla	-	-	Enola	+	+
Harmankaya 99	-	-	Sadova	-	-
Milena	-	-	Kırmızı Başak	-	-
Sana	-	-	Arpatan	-	-
Menemen	-	-	Akçabuğday	-	-
Mile	-	-	Kırık	-	-
SarıBuğday63886	-	-	Conkesme	-	-
Koca Buğday	-	-	Tir	-	-
İskenderiye	-	-	İngiliz Buğdayı	-	-
Akbuğday 63897	-	-		-	-
<u>MakarnalıkÇesitler</u>					
Fatasel 185/1	-	-	Meram-2002	-	-
Kunduru 1149	-	-	Üveyik	-	-
Çakmak 79	-	-	Sarı Bursa	-	-
Gökgöl 79	-	-	Aşure Buğdayı	-	-
Kızıltan 91	-	-	Durnadili	-	-
Altıntaş 95	-	-	SarıBuğday 63466	-	-
Harran 95	-	-	Akbuğday 63445	-	-
Selçuklu 97	-	-	Vatan	-	-
Yılmaz 98	-	-	Beyaziye	-	-
Sarıçanak	-	-	Sorgül	-	-
Ç-1252	-	-	Menceki	-	-
Yelken 2000	-	-	Karakılçık	-	-
Zenit	-	-	Bağacak	-	-

Var (+), Yok(-)

Zhou ve ark. (2003) SDS-PAGE yöntemiyle yaptıkları analizlerde Çin'de yetiştirilen buğday çeşitlerinin %50'den fazlasının çavdar translokasyonu taşıdığını rapor etmişlerdir. Landjeva ve ark. (2006) Bulgaristan'da yetiştirilen 31 buğday çeşidinde IBL.1RS translokasyonunun dağılımını incelemişlerdir. Bu çalışmada N-bantlama, depo protein analizleri ve DNA markörlerini kullanarak 17 çeşitte IBL.1RS çavdar translokasyonunun varlığını tespit etmişler ve translokasyon oranının

%55 olarak bildirmişlerdir. Köszeği ve ark. (2005) Macaristan’da 1978 ve 1999 yılları arasında tescil ettirilmiş buğday çeşitlerinde SDS-PAGE, C-bantlama ve genomik in situ hibridizasyon tekniklerini kullanarak yaptıkları çalışmada 35 çeşitte 1BL.1RS çavdar translokasyonunu tespit etmişler ve translokasyon oranını % 53 olarak rapor etmişlerdir.

Buğday-çavdar translokasyonları bazı hastalık ve zararlılara karşı direnç genleri taşıması ve biyotik ve abiyotik stres koşullarına yüksek tolerans göstermesi nedeniyle önemli bir gen kaynağıdır (Zeller, 1973; McIntosh, 1983; Mettin ve ark., 1973; Zeller ve Fuchs., 1983; Heun ve Fischbeck., 1987). Özellikle 1AL.1RS ve 1BL.1RS buğday-çavdar translokasyonları ıslah programlarında çok yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. Hastalık ve zararlılarla mücadele ve adaptasyon yeteneği özellikle kuraklığa yüksek tolerans göstermesi verim artışına dolaylı ama önemli bir etki sağlamaktadır (Nguyen ve ark., 2004; Quarrie ve ark., 2005; Diab ve ark., 2004)

Buğday-çavdar translokasyonlarını tespit etmek önceleri zor ve zaman alıcıydı. Ancak PCR’a dayalı DNA markörlerinin geliştirilmesiyle hızlı bir şekilde buğday çeşitlerinin çavdar translokasyonu taşıyıp taşımadığı tesbit edilebilmektedir (Koebner, 1995; Shimizu ve ark., 1997; Nadella ve ark., 2002; Nagy ve Lelley, 2003; Weng ve ark., 2007). Bu çalışmada özellikle ülkemizde 1BL.1RS buğday-çavdar translokasyonuna sahip buğday çeşitlerinin yüzdesinin, diğer ülkelerle karşılaştırıldığında çok düşük olduğu ve bu gen kaynağının ülkemiz buğday ıslahçıları tarafından yoğun olarak kullanılmadığı tespit edilmiştir.

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu çalışmada 1931 yılından 2006 yılına kadar tescil ettirilmiş olan 111 adet ekmeklik ve 26 adet makarnalık buğday çeşitlerinde cücelik genlerinin (*Rht-B1* ve *Rht-D1*) allelik durumları ile bu çeşitlerin 1AL.1RS ve 1BL.1RS buğday-çavdar translokasyonlarını taşıyıp taşımadığı araştırılmıştır. Bu çalışmada elde edilen sonuçlar maddeler halinde aşağıda verilmiştir.

1. Çalışmada *Rht-B1* geninin *Rht-B1a* (uzun tip) allelini belirlemek için NH.BF2-WR1.2 primer kombinasyonu kullanılmış, kontrol genotiplerle yapılan PCR analizleri sonucunda *Rht-B1a* allelini taşıyan genotiplerde 372 bp uzunluğunda bant elde edilmiştir. Bu alleli taşımayan genotiplerde PCR ürünü elde edilmemiştir.
2. *Rht-B1* geninin *Rht-B1b* (cüce tip) allelini belirlemek için NH.BF2-MR2 primer kombinasyonu kullanılmış, kontrol genotiplerle yapılan PCR analizleri sonucunda *Rht-B1b* allelini taşıyan genotiplerde 380 bp uzunluğunda bant elde edilmiştir. Bu alleli taşımayan genotiplerde PCR ürünü elde edilmemiştir.
3. Çalışmada *Rht-B1* geninin allelik durumu için incelenen 102 adet ekmeklik buğday çeşidinden 62 adet ekmeklik buğday çeşidinin *Rht-B1a* (uzun tip) allelini, 40 adet ekmeklik buğday çeşidinin *Rht-B1b* (cüce tip) allelini taşıdığı belirlenmiştir.
4. Çalışmada kullanılan 26 adet makarnalık buğday çeşidinden 16 adedinin *Rht-B1a* (uzun tip) allelini, 10 adedinin de *Rht-B1b* (cüce tip) allelini taşıdığı belirlenmiştir.
5. Araştırmada kullanılan toplam 128 adet ekmeklik ve makarnalık buğday çeşidinin % 39'u *Rht-B1b* cüce alleli taşıırken % 61'i *Rht-B1a* uzun alleli taşıdığı tespit edilmiştir.
6. Araştırmada çalışılan diğer cücelik geni *Rht-D1* geninin *Rht-D1a* (uzun tip) allelini belirlemek için DF-WR2 primerleri kullanılarak kontrol genotiplerle yapılan PCR analizleri sonucunda herhangi bir PCR ürünü elde edilememiştir.

7. *RhtD1* geninin cüceliği sağlayan *Rht-D1b* allelini belirlemek için DF-MR2 primerları kullanılarak kontrol genotiplerle yapılan PCR analizleri sonucunda *Rht-D1b* allelini taşıyan genotiplerde 264 bp uzunluğunda bant elde edilmiştir. *Rht-D1b* allelini taşımayan genotiplerde ise PCR ürünü elde edilmemiştir.
8. *Rht-D1* cücelik geninin allellik durumu incelenen 92 adet ekmeklik buğday çeşidinden dört tanesinin *Rht-D1b* (cüce tip) allelini taşıdığı belirlenmiştir.
9. *Rht-D1* geninin allellik durumunu incelemek için kullanılan 92 adet ekmeklik buğday çeşidinin % 4.3'ünün *Rht-D1b* allelini taşıdığı tespit edilmiştir.
10. Çalışmada 1AL.1RS ve 1BL.1RS buğday-çavdar translokasyonlarını belirlemek için 9 adet (RYE-NOR, RIS, PAW161, PAW S5/S6, SCM9, O-SEC-A/R, SEC1GENE, SEC1PRO ve RYE R3/F3) çavdar spesifik primeri kullanılarak yapılan PCR analizleri sonucunda kullanılan bütün primerların buğday-çavdar translokasyonları için spesifik bantlar oluşturdıkları saptanmıştır. Ayrıca üç DNA markörünün ise (SCM9, PAWS5/S6, O-SEC-A/R) 1AL.1RS ve 1BL.1RS translokasyonlarını ayrı ayrı tanımlayacak PCR ürünü verdiği saptanmıştır.
11. Bu çalışmada O-SEC-A/R primeri kullanılarak 1AL.1RS ve 1BL.1RS buğday-çavdar translokasyonlarının tek PCR analizi ile birbirlerinden ayırt edilebileceği gösterilmiştir.
12. Türkiye'de yetiştirilen ekmeklik ve makarnalık buğday çeşitlerinin 1AL.1RS ve 1BL.1RS translokasyonlarını belirlemek için incelenen toplam 111 adet ekmeklik ve 26 adet makarnalık buğday çeşidinden beş adet ekmeklik buğday çeşidinin 1BL.1RS buğday-çavdar translokasyonuna sahip olduğu belirlenmiştir. 1BL.1RS çavdar translokasyonunu taşıyan 5 çeşitten 4 tanesi (Seri-82, Osmaniye, Yıldız-98, Tahirova2000) Türkiye'de tescil ettirilmiştir. Türkiye'de yetiştirilen buğday çeşitlerinde 1BL.1RS translokasyonunun frekansı çok düşük (%2.9) olmakla birlikte 1AL.1RS translokasyonu saptanmamıştır.

Bu araştırma sonucunda Türkiye’de yetiştirilen ekmeklik ve makarnalık buğday çeşitlerinin, hem cücelik genlerinin allelik durumu hem de 1AL.1RS ve 1BL.1RS buğday-çavdar translokasyonlarını taşıyıp taşımadıkları ortaya çıkarılmıştır. Özellikle bu çalışma sonucunda DNA markörlerinin bu özellikleri hızlı bir şekilde tanımlamada rahatlıkla kullanılabileceği gösterilmiştir.

Buğday-çavdar translokasyonları sahip oldukları hastalık ve zararlılara karşı dayanıklılık genleri ve biyotik ve abiyotik stres koşullarına yüksek tolerans sağlaması açısından önemli bir gen kaynağı olarak buğday ıslahında önemli bir yer tutmaktadır. Fakat ülkemizde yetiştirilen buğday çeşitlerinde bu translokasyonlar yaygın olarak bulunmamaktadır. Bundan dolayı buğday-çavdar translokasyonları veya buna benzer farklı akraba türlerden elde edilmiş olan translokasyonların ülkemizde yapılan buğday ıslah çalışmalarında kullanılmaya başlanması gerekmektedir. Özellikle ülkemizin çavdar gen merkezi olduğu düşünüldüğünde, bu gen kaynağının buğday ıslah çalışmalarında kullanılmaya başlanması gerekmektedir.

KAYNAKLAR

- AHMAD, M., SORRELLS, M.E., 2002. Distribution of Microsatellite Alleles Linked to *Rht8* Dwarfing Gene in Wheat. *Euphytica*, 123: 235-240.
- ALLAN, R.E., 1970. Differentiating Between Two Norin 10/Brevor 14 Semidwarf Genes in a Common Genetic Background. *Seiken Ziho*, 22: 83-90
- ANDREWS, J.L., BLUNDELL, M.J., SKERRITT, J.H., 1996. Differentiation of Wheat-Rye Translocation Lines Using Antibody Probes for *Gli-B1* and *Sec-1*. *Cereal Sci*, 23:61-72
- AUSTIN, R.B., 1999. Yield of Wheat in The United Kingdom: Recent Advances and Prospects. *Crop Sci*, 39:1604–1610
- BOROJEVIC, S., BOROJEVIC, K., 2005. Historic Role of the Wheat Variety Akakomugi in Southern and Central European Wheat Breeding Programs. *Breeding Science*, 55: 253-256
- BORNER, A., WORLAND, A.J., PLASCHKE, J., SCHUMANN, E., LAW, C.N., 1993. Pleiotropic Effects of Genes for Reduced Height (*Rht*) and Day-Lenght Insensitivity (*Ppd*) on Yield and its Components for Wheat Grown in Middle Europe. *Plant Breeding*, 111: 204-216
- BORNER, A., PLASCHKE, J., KORZUN, V., WORLAND, A.J., 1996. The Relationship Between the Dwarfing Genes of Wheat and Rye. *Euphytica*, 89: 69-75
- DIAB, A., BANSCHER, D., SORRELLS, M.E., 2004. Identification of Drought Inducible Genes and Differentially Expressed Sequence Tags in Barley. *Theor. Appl. Genet.*, 109:1417-1425
- DOYLE, J.J., DOYLE, J.L., 1987. A Rapid DNA Isolation Procedure for Small Quantities of Fresh Leaf Tissue. *Phytochem. Bull.*, 19, 11—15
- EHDAIE, B., WHITKUS, R.W., WAINES, J.G., 2003. Root Biomass, Water-Use Efficiency, and Performance of Wheat-Rye Translocations of Chromosomes 1 and 2 in Spring Bread Wheat ‘Pavon’. *Crop Science*, 43:710-717.

- ELLIS, M.H., SPIELMEYER, W., GALE, K.R., REBETZKE, G.J., RICHARDS, R.A., 2002. 'Perfect' Markers for the *Rht-B1b* and *Rht-D1b* Dwarfing Genes in Wheat. *Theor. Appl. Genet.*, 105: 1038-1042
- EVANS, L.T., 1993. *Crop Evolution, Adaptation and Yield*. Cambridge University Press. Cambridge, UK, 500 p.
- FOULKES, M.J., SCOTT, R.K., SYLVESTER-BRADLEY R., 2002. The Wheat Cultivars to Withstand Drought in UK Conditions: Formation of Grain Yield. *Journal of Agricultural Science*, 138:153-169
- FOULKES, M.J., VERMA, V., SYLVESTER_BRADLEY, R., WEIHTMAN, R., SNAPE, W.J., 2004. Traits for Improved Drought Tolerance of Winter Wheat. In: *Proceedings of the 4th International Crop Science Congress*. Brisbane, Australia.
- FRIEBE, B., ZELLER, F.J., KUNZMANN, R., 1987. Transfer of 1B/1R wheat-rye Translocation from Hexaploid Bread Wheat to Tetraploid Durum Wheat. *Theor Appl Genet*, 74:423-425
- FRIEBE, B., JIANG, J., RAUPP, W.J., MCINTOSH, R.A., GILL, B.S., 1996. Characterization of Wheat-Alien Translocations Conferring Resistance to Diseases and Pests: Current Status. *Euphytica*, 91:59-87
- GALE, M.D., LAW, C.N., WORLAND, A.J., 1975. The Chromosomal Location of a Major Dwarfing Genes from Norin 10 in New British Semidwarf Wheats. *Heredity*, 35: 417-421
- GALE, M.D., GREGORY, R.S., 1977. A Rapid Method for Early Generation Selection of Dwarf Genotypes in Wheat. *Euphytica*, 26:733-738
- GALE, M.D., YOUSSEFIAN, S., 1985. Dwarfing Genes in Wheat. In: *Progress in Plant Breeding* (Russell, G.E., ed). London, Butterworth; 1-35.
- GENT, M.P.N., KIYOMOTO, R.K., 1998. Physiological and Agronomic Consequence of *Rht* Genes in Wheat. *J. Crop Prod*, 1: 27-46
- GILL, B.S., KIMBER, G., 1977. Recognition of Translocations and Alien Chromosome Transfers in Wheat by the Giemsa C-banding Technique. *Crop Science*, 17: 264-266

- GRAYBOSCH, R.A., LEE, J.H., PETERSON, C.J., PORTER, D.R., CHUNG, O.K., 1999. Genetic, Agronomic and Quality Comparisons of Two 1AL.1RS Wheat-Rye Chromosomal Translocations. *Plant Breeding*, 118:125-130
- GRAYBOSCH, R.A., 2001. Uneasy Unions: Quality Effects of Rye Chromatin Transfers to Wheat. *J Cereal Science*, 33:3-16
- GUIDET, F., ROGOWSKY, P., TAYLOR, C., SONG, W., LANGRIDGE, P., 1991. Cloning and Characterisation of a New Rye Specific Repeated Sequence. *Genome*, 34: 81-87
- HESLOP-HARRISON, J.S., LEITH, A.R., SCHWARZACHER, T., ANAMTHAWAT-JONSSON, K., 1990. Detection and Characterisation of 1B/1R Translocation in Hexaploid Wheat. *Heredity*, 65:385-392
- HEUN, M., FISCHBECK, G., 1987. Identification of Wheat Powdery Mildew Resistance Genes by Analysing Host-Pathogen Interactions. *Plant Breeding* 98: 124-129.
- HEUN, M., SCHAFFERPREGL, R., KLAHAN, D., CASTAGNA, R., ACCERBI, M., BORGHI, B., SALAMINI, F., 1997. Site of Einkorn Wheat Domestication Identified by DNA Fingerprinting. *Science*, 278 (5341): 1312-1314
- HSAM, S.L.K., MOHLER, V., HARTLY, L., WENZEL, G., ZELLER, F.J., 2000. Mapping of Powdery Mildew and Leaf Rust Resistance Genes on Wheat-Rye Translocated Chromosome T1BL.1RS Using Molecular and Biochemical Markers. *Plant Breeding*, 119:87-89
- JIANG, J., FRIEBE, B., GILL, B.S., 1994. Chromosome Painting of Amigo Wheat. *Theor Appl. Genet*, 89:811-813
- KATTO, M.C., ENDO, T.R., NASUDA, S., 2004. A PCR-based Marker for Targeting Small Rye Segments in Wheat Background. *Genes Genetic Systems*, 79: 245-250
- KOEBNER, R.M., SHEPHERD, K.W., 1986. Controlled Introgression to Wheat of Genes from Rye Chromosome Arm 1RS by Induction of Allopolysynthesis. *Theor Appl Genet*, 73: 197-208

- KOEBNER, R.M.D., 1995. Generation of PCR-based Markers for the Detection of Rye Chromatin in a Wheat Background. *Theor Appl Genet*, 90:740-745
- KORZUN, V., RODER, M.S., GANAL, M.W., WORLAND, A.J., LAW, C.N., 1998. Genetic Analysis of the Dwarfing Gene (Rht8) in Wheat. Part I. Molecular Mapping of Rht8 on the Short Arm of Chromosome 2D of Bread Wheat (*Triticum aestivum* L.). *Theor. Appl. Genet.*, 96:1104-1109.
- KOSZEGI, B., LINC, G., JUHASZ, L., LANG, L., MOLNAR-LANG, M., 2005. Occurrence of the 1RS/1BL Wheat-Rye Translocation in Hungarian Wheat Varieties. *Acta Agronomica Hungarica*, 48(3): 227-236
- LANDJEVA, S., KORZUN, V., TSANEV, V., VLADOVA, R., GANEVA, G., 2006. Distribution of the Wheat-Rye Translocation 1RS.1BL among Bread Wheat Varieties of Bulgaria. *Plant Breeding*, 125:102-104
- LIU, Y., LIU, D., ZHANG, H., WANG, J., SUN, J., GUO, X., ZHANG, A., 2005. Allelic Variation, Sequence Determination and Microsatellite Screening at the XGWM261 in Chinese Hexaploid Wheat (*Triticum aestivum*) Varieties. *Euphytica*, 145:103-112.
- LUKASZEWSKI, A.J., GUSTAFSON, J.P., 1983. Translocations and Modifications of Chromosomes in Triticale x Wheat Hybrids. *Theor Appl Genet*, 64:239-248
- LUKASZEWSKI, A.J., 1990. Frequency of 1RS.1BL and 1RS.1BL Translocations in United States Wheats. *Crop Science*, 30: 1151-1153
- MCINTOSH, R.A., 1983. A Catalogue of Gene Symbols for Wheat. In: Sakamoto S (eds) *Proc of 6th Int Wheat Genet Symp.* University of Kyoto, Kyoto, Japan, pp 1197-1254
- MCINTOSH, R.A., HART, G.E., GALE, M.D., 1995. Catalogue of Gene Symbols for Wheat. In: Li, Z.S., Xin, Z.Y., (eds) *Proc. 8th Int. Wheat Genet Symp.* Sciencetech Press, Beijing, pp 1333-1500
- MCVITTIE, J.A., GALE, M.D., MARSHALL, G.A., WESTCOTT, B., 1978. The Intrachromosomal Mapping of the Norin 10 and Tom Thumb Dwarfing Gene. *Heredity*, 40: 67-70

- METTIN, D., BLÜTHNER, W.D., SCHLEGEL, G., 1973. Additional Evidence on Spontaneous 1BL.1RS Wheat-Rye Substitutions. *Wheat Genet Symp*, 179-184
- MORENO-SEVILLA, B., BAEZIGER, P.S., PETERSON, C.F., GRAYBOSCH, R.A., MCVEY, D.V., 1995. The T1BL.1RS Translocation: Agronomic Performance of F₃-Derived Lines from a Winter Wheat Cross. *Crop Science*, 35: 1051-1055
- NADELLA, K.D., PEAKE, A.S., BARIANA, H.S., COOPER, M., GODWIN, I.D., CARROLL, B.J., 2002. A Rapid PCR Protocol for Marker Assisted Detection of Heterozygotes in Segregating Generations Involving 1BL/1RS Translocation and Normal Wheat Lines. *Aust J. Agric Res*, 53:931-938
- NAGY, E.D., LELLEY, T., 2003. Genetic and Physical Mapping of Sequence-Specific Amplified Polymorphic (SSAP) Makers on the 1RS Chromosome Arm of Rye in a Wheat Background. *Theor Apply Genet*, 107: 1271-1277
- NGUYEN, T.T.T., KLUEVA, N., CHAMARECK, V., AARTI, A., MAGPANTAY, G., MILLENA, A.C., PATHAN, M.S., NGUYEN, H.T., 2004. Saturation Mapping of QTL Regions and Identification of Putative and Candidate Genes for Drought Tolerance in Rice. *Mol. Gen. Genet.*, 272: 35-46
- OZKAN, H., BRANDOLINI, A., SCHAFER-PREGL, R., SALAMINI, F., 2002. AFLP Analysis of a Collection of Tetraploid Wheats Indicates the Origin of Emmer and Hard Wheat Domestication in Southeast Turkey. *Molecular Biology And Evolution*, 19 (10): 1797-1801
- OZKAN, H., BRANDOLINI, A., POZZI, C., EFFGEN, S., WUNDER, J., SALAMINI, F., 2005. A Reconsideration of the Domestication Geography of Tetraploid Wheats. *Theoretical and Applied Genetics*, 110 (6): 1052-1060
- PENG, J.R., CAROL, P., RICHARDS, D.E., KING, K.E., COWLING, R.J., MURPHY, G.P., HARBERD, N.P., 1997. The Arabidopsis GAI Gene Defines a Signaling Pathway that Negatively Regulates Gibberellin Responses. *Genes & Development*, 11 (23): 3194-3205

- PENG, J.R., RICHARDS, D.E., HARTLEY, N.M., MURPHY, G.P., DEVOS, K.M., FLINTHAM, J.E., BEALES, J., FISH, L.J., WORLAND, A.J., PELICA, F., SUDHAKAR, D., CHRISTOU, P., SNAPE, J.W., GALE, M.D., HARBERD, N.P., 1999. 'Green Revolution' Genes Encode Mutant Gibberellin Response Modulators. *Nature*, 400 (6741): 256-261
- PORTER, D.R., WEBSTER, J.A., FRIEBE, B., 1994. Inheritance of Greenbug Biotype G Resistance in Wheat. *Crop Science*, 34:25-628
- RABINOVICH, S.V., 1998. Importance of Wheat-Rye Translocations for Breeding Modern Cultivars of *Triticum aestivum* L. *Euphytica*, 100:323-340
- RAYBURN, A.L., CARVER, B.F., 1988. Cytological Identification of 1B/1R Wheat-Rye Translocations in Winter Wheat Breeding Lines. *Euphytica*, 38:237-240
- RICHARDS, R.A., 1992. The Effect of Dwarfing Genes in Spring Wheat in Dry Environments: I. Agronomic Characteristics. *Aust. J. Agric. Res.*, 43:517-527
- ROGOWSKY, P.M., SORRELS, M.E., SHEPHERD, K.W., LANGRIDGE, P. 1992. Characterisation of Wheat-Rye Recombinants with RFLP and PCR Probes. *Theoretical and Applied Genetics*, 85: 1023-1028
- QUARRIE, S.A., STEED, A., CALESTANI, C., SEMIKHODSKII, A., LEBRETON, C., CHINOY, C., STEELE, N., PLJEVLJAKUSIC, D., WATERMAN, E., WEYEN, J., SCHONDELMAIER, J., HABASH, D.Z., FARMER, P., SAKER, L., CLARKSON, D.T., ABUGALIEVA, A., YESSIMBEKOVA, M., TURUSPEKOV, Y., ABUGALIEVA, S., TUBEROSA, R., SANGUINETI, M.C., HOLLINGTON, P.A., ARAGUES, R., ROYO, A., DODIG, D., 2005. A High-Density Genetic Map of Hexaploid Wheat (*Triticum aestivum* L.) from the Cross Chinese Spring X SQ1 and its Use to Compare QTLs for Grain Yield Across a Range of Environments. *Theoretical and Applied Genetics*, 110 (5): 865-880
- SAAL, B.G., WRICKE, G., 1999. Development of Simple Sequence Repeats Markers in Rye (*Secale cereale* L.). *Genome*, 42:964-972

- SALAMINI, F., OZKAN, H., BRANDOLINI, A., SCHAFER-PREGL, R., MARTIN, W., 2002. Genetics and Geography of Wild Cereal Domestication in the Near East. *Nature Reviews Genetics*, 3 (6): 429-441
- SALLY, R., CLAYSHULTE, SCOTT, D., H., PATRICK, F. B., AND XUEYAN, S., 2007. Traits Associations at the Xgwm 261 and Rht-B1 Loci in Two Winter Wheat Recombinant Inbred Line Populations. *Crop Science*, 47:2346-2355
- SCHLEGEL, R., MEINEL, A., 1994. A Quantitative Trait Locus (QTL) on Chromosome Arm 1RS of Rye and its Effect on Yield Performance of Hexaploid Wheat. *Cereal Res Comm*, 22:7-13
- SCHLEGEL, R., KORZUN, V., 1997. About the Origin of 1RS.1BL Wheat-Rye Chromosome Translocations from Germany. *Plant Breeding*, 116:537-540
- SEBESTA, E.E., WOOD, E.A., 1978. Transfer of Greenbug Resistance from Rye to Wheat with X-rays. *Agron Abstr, Am Soc Agron*, 61-62
- SEBESTA, E.E., WOOD, E.A., PORTER, D.R., WEBSTER, J.A., SMITH, E.L., 1994. Registration of Amigo Wheat Germplasm Resistant to Greenbug. *Crop Science*, 34: 293
- SHIMIZU, Y., NASUDA, S., ENDO, T.R., 1997. Detection of Sec-1 Locus of Rye by a PCR-based Method. *Genes Genet Syst*, 72: 197-203
- SUTKA, J., KOVACS, G., 1987. Chromosomal Location of Dwarfing Gene *Rht12* in Wheat. *Euphytica* 36: 521-523
- VILLAREAL, R.L., RAJARAM, S., MUJEEB-KAZI, A., DEL TORO, E., 1991. The Effects of Chromosome 1B/1R Translocation on Yield Potential of Certain Spring Wheats (*Triticum aestivum* L.). *Plant Breeding*, 106:77-81
- VILLAREAL, R.L., DEL TORO, E., MUJEEB-KAZI, A., RAJARAM, S., 1995. The T1BL.1RS Chromosome Translocation Effect on Yield Characteristics in a *Triticum aestivum* L. cross. *Plant Breeding*, 114:497-500
- VILLAREAL, R.L., BANUELOS, O., MUJEEB-KAZI, A., 1997. Agronomic Performance of Related Durum Wheat (*Triticum turdigum* L.) Stocks Possessing the Chromosome Substitution T1BL.1RS. *Crop Sci* 37:1735-1740

- VILLAREAL, R.L., BANUELOS, O., MUJEEB-KAZI, A., RAJARAM, S., 1998. Agronomic Performance of Chromosomes 1B and T1BL.1RS Near-isolines in the Spring Bread Wheat Seri M82. *Euphytica*, 103: 195-202
- WENG, Y., AZHAGUVEL, P., DEVKOTA, R.N., RUDD, J.C., 2007. PCR-based Markers for Detection of Different Sources of 1AL.1RS and 1BL.1RS Wheat-Rye Translocations in Wheat Background. *Plant Breeding*, 126: 482-486
- WORLAND, A.J., LAW, C.N., SHAKOOR, A., 1980. The Genetical Analysis of an Induced Height Mutant in Wheat. *Heredity*, 45: 61-71
- WORLAND, A.J., LAW, C.N., 1986. Genetic Analysis of Chromosome 2D of Wheat. The Location of Genes Accelerating Height, Day Length Insensitivity and Yellow Rust Resistance. *Z Pflanzenzuchtg*, 96: 331-345
- WORLAND, A.J., LAW, C.N., PETROVIC, S., 1990. Height Reducing Genes and their Importance to Yugoslavian Winter Wheat Varieties. *Savremena Poljoprivreda*, 38: 245-258
- WORLAND, A.J., KORZUN, V., Roder, M.S., GANAL, M.W., LAW, C.N., 1998. Genetic Analysis of the Dwarfing Gene Rht8 in Wheat. Part 2. The Distribution and Adaptive Significance of Allelic Variants at the Rht8 Locus of Wheat as Revealed by Microsatellite Screening. *Theor Appl Genet.*, 96: 1110-1120.
- YAMAMOTO, M., MUKAI, Y., 2005. High-resolution Physical Mapping of the Secalin-1 Locus of Rye on Extended DNA Fibers. *Cytogenet Genome Res.*, 109: 79-82
- ZELLER, J.F., 1973. 1B/1R Wheat-Rye Substitutions and Translocations. In: Sears ER, Sears MS (eds) *Proc of 4th Int Wheat Genet Symp.* University of Missouri, Columbia, USA, pp 209-221
- ZELLER, J.F., HSAM, S.L.K., 1983. Broadening the Genetic Variability of Cultivated Wheat by Utilizing Rye Chromatin. *Wheat Genet Symp*, 161-173
- ZELLER, F.J., FUCHS, E., 1983. Cytologie und Krankheitsresistenz einer 1A/1R- und mehrerer 1B/1R-Weizen-Roggen-Translokationsorten. *Z. Pflanzenzüchtg*, 90:285-296

- ZHANG, X., YANG, S., ZHOU, Y., HE, Z., XIA, X., 2006. Distribution of *Rht-B1b*, *Rht-D1b* and *Rht8* Reduced Height Genes in Autumn-Sown Chinese Wheats Detected by Molecular Markers. *Euphytica*, 152: 109-116
- ZHOU, Y., HE, Z.H., LIU, J.J., LIU, L., 2003. Distribution of 1BL/1RS Translocation in Chinese Winter Wheat and its Effect on Noodle Quality. In: Prognà NE, Romano M, Galterio G (eds) Proc 10th Int Wheat Genetics Symp. Paestum Italy, 3:1419-1421

ÖZGEÇMİŞ

17.06.1980 tarihinde Adana’da doğdum. İlk, orta ve lise öğrenimimi Adana’da tamamladım. Lisans öğrenimimi 2005 yılında Çukurova üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü’nde tamamladım. Yüksek lisans öğrenimime 2006 yılında Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoteknoloji Anabilim dalında başladım ve halen devam etmekteyim.